

Monica Levy Andersen

**CONTRIBUIÇÕES PARA O ENTENDIMENTO DO
PAPEL DO SONO SOBRE A FUNÇÃO SEXUAL
MASCULINA**

Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo para obtenção do título de Professor
Livre-Docente junto ao Departamento de
Psicobiologia

São Paulo
2013

Andersen, Monica Levy

Contribuições para o entendimento do papel do sono sobre a função sexual masculina. / Monica Levy Andersen. -- São Paulo, 2013.

iii, 125f.

Tese (Livre Docência) - Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina. Departamento de Psicobiologia.

Título em inglês: Contributions to the understanding of the role of sleep on male sexual function.

1. Sono. 2. Ereção Peniana. 3. Comportamento Sexual. 4. Testosterona. 5. Progesterona. 6. Disfunção Erétil. 7. Apneia do Sono Tipo Obstrutiva.

Esta tese foi desenvolvida na seguinte instituição:

Universidade Federal de São Paulo

Escola Paulista de Medicina (UNIFESP/EPM)

Departamento de Psicobiologia

Disciplina de Medicina e Biologia do Sono

Fontes de financiamento:

Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa (AFIP)

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

Fundo de Auxílio aos Docentes e Alunos (FADA)

DEDICATÓRIA

Ao Querido **Sergio Tufik**,

Mentor exemplar,

Grande amigo e incentivador,

Meu maior companheiro nessa jornada,

Pelo carinho, confiança, entusiasmo e pelos maravilhosos momentos desenvolvendo tantos projetos juntos,

Por seu notável envolvimento e empenho em cada atividade acadêmica,

E por presentear-me com esta linha de pesquisa.

“O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis”.

Fernando Pessoa

AGRADECIMENTOS

Mãe (Silvia Levy Andersen), muita saudade de tudo que você sempre me proporcionou, educando-me e preparando-me para a vida. Sua admirável bravura e coragem me ensinaram a lutar e vencer as barreiras colocadas pelo destino. Seu amor, carinho e seus ensinamentos estarão sempre comigo.

Ao meu pai **Vagn Andersen**,

Homem inteligente, justo e honesto, por ser meu exemplo de caráter e de dedicação ao trabalho.

À minha irmã **Vivian Levy Andersen**,

Pela sua existência em minha vida.

“Uma borboleta brilha ao nosso lado como um feixe ao sol. Por um momento sua glória e beleza pertencem ao nosso mundo. Mas então, ela voa de novo e, apesar de desejarmos que ela tivesse ficado, nos sentimos afortunados por tê-la visto”.

Uma Tese de Livre-Docência não é fruto exclusivo do empenho do pesquisador ao longo de sua trajetória. Esta coletânea aqui apresentada é resultante da participação direta de inúmeras pessoas, as quais tive a oportunidade de conhecer e com elas trabalhar. A essas pessoas muito especiais que me proporcionaram, além desses resultados, dias melhores, meus sinceros agradecimentos:

Ao **Sergio Tufik**, pelo incentivo, cumplicidade e companheirismo nesses anos. E por me mostrar diariamente que é possível conciliar prazer com profissão. Devo a você a minha carreira acadêmica.

À **Tathiana Alvarenga**, por ser a grande companheira nessa jornada, pela amizade e por fazer meus dias melhores.

Aos meus queridos alunos, tão jovens e já exemplos de otimismo e de profissionalismo, por fazerem de mim uma pessoa melhor a cada dia, e pela contribuição ao longo desta caminhada. Em especial, **Camila Hirotsu, Daniel Polesel, Gabriel Pires, Karen Nozoe, Laís Berro, Paula Araújo e Rachel Albuquerque**. Muito obrigada! *“Ensinar exige uma disponibilidade para amar - Alberto Consolaro”*

Ao insubstituível amigo **Roberto Frussa Filho**, grande parceiro na idealização de tantos experimentos e muitas saudades das nossas conversas que resultaram em algumas das melhores discussões que fazem parte desta Tese. Por você ser um exemplo de competência e de sabedoria, com quem aprendo e divido o prazer pelas descobertas.

Às melhores amigas **Helena Hachul** e **Renata Mázano-Costa**, pela harmonia, amizade sincera e irmandade.

Aos docentes da Disciplina de Medicina e Biologia do Sono, **Lia Rita Bittencourt** e **Marco Túlio de Mello**. Em especial, à Lia pela amizade e colaboração nos projetos de pesquisa.

Ao parceiro diário de experimentos **Waldermaks Leite**, “Dunga”, pelo auxílio inestimável e pelo profissionalismo na realização dos projetos. E à **Carla Brentan**, nova integrante dessa família, por estar sempre disposta a ajudar.

Ao Professor **Katsumasa Hoshino** por ter acreditado em mim ainda na aulas de Fisiologia na Graduação, e por ser um exemplo a ser seguido.

Às amigas **Vânia D’Almeida**, **Camila Guindalini** e **Magda Bignotto**, por contribuírem com sua amizade, competência e profissionalismo na vida acadêmica.

À **Juliana Perry**, **Teresa Schütz**, **Iracema** e **Laura Bennedsen**, vocês dão sentido à palavra amizade.

À **Valéria Acquilino** e **Júlio Nascimento**, pela ajuda valiosa para a realização desta etapa, e pelo bom convívio durante esses anos.

À **Andréia Bezerra**, **Dilu Assumpção**, **José F. Galduróz**, **Jair Chagas** e **Silvério Garbuio**, pelo carinho e pela cumplicidade.

Ao pessoal da secretaria, **Mara Vianna** e **Jacqueline Wetzl**, agradeço o tempo e o apoio que me dedicaram.

À **Maria Cristina Jorge**, pela competente assistência profissional e amigável desde o meu início no Departamento.

Ao **Nélson da Silva**, **Sebastião da Silva**, **Eduardo Caetano**, **Zélio Mendes**, **Josefa de Alencar**, **Claudete dos Santos** e **Gilberto de Carvalho**, funcionários exemplares, pela competência e contribuição humana dada ao Departamento de Psicobiologia.

Ao **Tomé Pimentel**, **Marilde Costa**, **Ricardo Marques**, **Manoel Novais**, **Ivan Xavier** e **José da Costa**, pelos zelosos cuidados dispensados aos animais e pelo auxílio oferecido durante a experimentação animal.

Ao tio **Sérgio Levy**, por ter sido minha inspiração para eu seguir a carreira de Ciências Biológicas.

“Há pessoas que passam em nossa vida e deixam um pouco de si. Outras levam um pouco de nós, porém há algumas que simplesmente permanecem”.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AASM	<i>American Academic Sleep Medicine</i>
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AngII	Angiotensina II
AR+CAG	Receptor androgênico com sequência de nucleotídeos CAG
CEBRID	Centro Brasileiro de Informação sobre Drogas Psicotrópicas
DAT	Transportador de dopamina
DDAH1	Dimetilarginina dimetilaminohidrolase 1
DE	Disfunção erétil
DHT	Dihidrotestosterona
E2	Estradiol
ECA2	Enzima conversora de angiotensina 2
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
ERS	Ereção relacionada ao sono
FSH	Hormônio folículo estimulante
GMP	Guanosina monofosfato
GMPc	Guanosina monofosfato cíclico
HPA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
IAH	Índice de apneia-hipopneia
IIEF	Índice internacional de função erétil
IMC	Índice de massa corporal
IRC	Insuficiência renal crônica
LH	Hormônio luteinizante

L-NAME	NG-nitro-L-arginina metil-éster
LPOA	Área pré-óptica lateral
NANC	Fibras nervosas noradrenérgicas não-colinérgicas
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
NREM	Não <i>Rapid Eye Movement</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PDE-5	Fosfodiesterase da classe de tipo 5
PROGINS	Receptor de progesterona
PSG	Polissonografia
PSP	Privação de sono paradoxal
REM	<i>Rapid eye movement</i>
RNA	Ácido ribonucleico
RS	Restrição de sono
SAOS	Síndrome da apneia obstrutiva do sono
SHR	Ratos espontaneamente hipertensos
SOL	Sono de ondas lentas
TNF- α	Fator de necrose tumoral α

APRESENTAÇÃO

O texto aqui apresentado traz inicialmente uma contextualização literária do ponto de vista histórico e geral da função sexual masculina associada ao sono e aos efeitos da privação de sono mediados pela regulação hormonal em homens e ratos. Este panorama servirá como base para a justificativa da relevância dos estudos propostos e abordados posteriormente. Em seguida, sob perspectiva histórica, com caráter objetivo e ilustrativo (anexos), o texto pretende expor criticamente as contribuições científicas decorrentes da principal linha de pesquisa desta candidata ao título de Livre-Docência.

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
1. REVISÃO DA LITERATURA	15
1.1 Função erétil: história, fisiologia e implicações	15
1.2 Fisiologia das ereções relacionadas ao sono	19
1.3 Reflexos genitais e comportamento sexual.....	23
1.4 Regulação hormonal da resposta sexual masculina	27
1.5 Privação de sono e função sexual	31
2. CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS DA CANDIDATA	41
2.1 Fenômeno de reflexo genital em resposta à privação de sono	42
2.2 Reflexos genitais em resposta à privação de sono e regulação hormonal ...	55
2.3 Efeitos da privação de sono paradoxal sobre o comportamento sexual masculino e a regulação hormonal	67
2.4 Efeitos da privação de sono sobre a resposta sexual masculina em modelos animais de condições clínicas	78
2.4.1 Hipertensão	79
2.4.2 Diabetes	80
2.4.3 Obesidade	81
2.4.4 Epilepsia.....	84
2.4.5 Insuficiência renal crônica	86
2.5. Estudos clínicos sobre a associação entre problemas de sono e disfunção erétil.....	88
3. PARTICIPAÇÃO DA CANDIDATA NO CENÁRIO MUNDIAL	93
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	97
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	102

RESUMO

A ereção peniana é essencial para o sucesso da reprodução e depende da integração de diversos mecanismos, como, por exemplo, psicológicos, vasculares, endócrinos, neurológicos e miogênicos, desencadeados por resposta reflexa ou estímulo psicogênico de origem central. Durante o sono, as ereções podem ocorrer por meio da via descendente, que passa pela medula espinhal, e envia impulsos capazes de ativar o sistema reflexo peniano em todos os homens saudáveis desde o nascimento até o envelhecimento, independentemente do conteúdo do sonho. O tempo de intumescimento durante esse período é de aproximadamente 90 minutos por noite ou 20% do tempo total de sono. Desde sua descoberta na década de 40, a função do intumescimento peniano durante o sono ainda permanece um enigma intrigante. Ressalta-se que a elucidação dos mecanismos eréteis relacionados ao sono e à vigília é essencial para o eventual diagnóstico e tratamento da impotência. Em ratos, o estudo da interação das bases neuroendócrinas do comportamento sexual e da neurobiologia do sono pode permitir a demonstração da influência dos fatores hormonais como determinantes da expressão global da atividade copulatória e sua relação com o sono. Embora o sono seja fundamental para a qualidade de vida, é cada vez mais prevalente a redução do tempo de sono no mundo contemporâneo. O débito de sono ocasiona inúmeras alterações na saúde. Dessa forma, para tentar investigar a importância do sono e como sua falta pode modular as funções biológicas, diferentes metodologias experimentais vêm sendo utilizadas, dentre elas a privação de sono paradoxal (PSP). De fato, no modo de vida atual, a maior parte da privação de sono ocorre na fase de sono paradoxal/REM, na segunda metade da noite. Assim, nesta tese apresentam-se os principais estudos da linha de pesquisa sobre o entendimento do sono sobre a resposta sexual. Durante os últimos 13 anos, nossos trabalhos têm revelado uma marcante participação do sono, e principalmente da sua privação, na função sexual masculina. Diferentes manipulações experimentais foram executadas na tentativa de ampliar a compreensão das interações complexas subjacentes à regulação do comportamento sexual. Para tanto, utilizou-se duas abordagens: a) ratos machos submetidos à PSP e em seguida à observação comportamental e à análise hormonal; ou b) estudos

clínicos com homens com queixas de disfunção sexual. Os resultados têm consistentemente demonstrado que a PSP apresenta um efeito facilitatório sobre a ocorrência de reflexos genitais espontâneos em ratos jovens, adultos e idosos. No entanto, a PSP promove prejuízos no desempenho sexual na presença de fêmeas. Documentamos o aumento de progesterona e a redução de testosterona nos ratos privados de sono. A importância desse estudo no cenário científico reflete-se pelas 112 citações do artigo original. A partir desses achados, desenvolvemos diversos trabalhos no intuito de verificar os fatores hormonais relevantes para promover uma boa resposta sexual modulada pela PSP em ratos machos. Observamos que a administração de progesterona após a PSP em ratos castrados induziu um aumento no número de ereções em relação aos ratos administrados com testosterona, enquanto o pré-tratamento com antagonista do receptor de progesterona reduziu significativamente o número de ereções após privação de sono. Acreditamos que os resultados obtidos possam de alguma maneira adicionar mais subsídios para a marcante participação da progesterona em eventos essenciais da reprodução, como a ereção. No que concerne os achados clínicos derivados de um estudo epidemiológico, observou-se a relação de alguns polimorfismos com a queixa de disfunção erétil associada ou não com distúrbios de sono. Nesse contexto, a linha de pesquisa iniciada na tese de Doutorado da candidata tem revelado diversas evidências para uma forte associação entre a redução de sono e modificações na função sexual em ratos machos e em homens. Em conjunto, esta tese apresenta as principais contribuições da candidata sobre os estudos do papel do sono na função sexual masculina no âmbito translacional para a literatura internacional. Com isso, pode-se levantar diferentes perspectivas para essa temática tanto para abordagem pré-clínica como populacional: a) modelos animais que englobem diferentes metodologias sofisticadas de registro de ereção peniana durante a privação de sono; e b) condução de estudos epidemiológicos com polissonografia para identificação de correlatos de queixas de disfunção sexual com problemas de sono. O reflexo desses estudos em conjunto com esse nível de produção no cenário científico nos permitirá manter a excelência do nosso grupo nas pesquisas no tema “sono e comportamento sexual”.

ABSTRACT

Penile erection is essential for successful reproduction, and depends on the integration of various mechanisms, including psychological, vascular, endocrine, neurological, and myogenic processes triggered by reflex response or psychogenic stimulus from central origin. During sleep, erections can occur through the descending pathway that passes through the spinal cord and signals able to activate the penile reflex system in all healthy males from birth to aging, regardless of the content of the dream. The cumulative duration of tumescence during the night is approximately 90 minutes or 20% of total sleep time. Since its discovery in the 1940s, the function of penile erection during sleep remains a puzzling enigma. It is important to note that elucidation of erectile mechanisms related to sleep and wakefulness is essential to the eventual diagnosis and treatment of impotence. Study of the interaction between the underlying neurobiological and neuroendocrine bases for sleep and sexual behavior in rats will illuminate the influence of hormonal factors in expression of mating behavior and its relationship with sleep. Although sleep is essential for good health, sleep loss is increasingly prevalent in the contemporary world. Sleep debt causes numerous changes to overall welfare. In fact, most of sleep deprivation in modern life occurs during paradoxical/ REM sleep in the second half of the night. However, the consequences of paradoxical sleep deprivation (PSD) on sexual function have been little studied. Thus, this thesis presents the main studies of the research on the role of sleep in sexual response. During the past 13 years, our work has revealed a marked participation of sleep, and especially its deprivation in male sexual function. To broaden the understanding of the complex interactions underlying the regulation of sexual behavior, we used two approaches: a) male rats submitted to PSD and then behavioral observation and hormonal analysis; or b) clinical studies including men with complaints of sexual dysfunction. The results have consistently shown that PSD facilitates the occurrence of spontaneous genital reflexes in young, adult, and old rats. However, PSD promotes impairment of sexual performance in the presence of females. Herein, increased progesterone and decreased testosterone levels were documented in sleep deprived rats. The importance of this study to the scientific field is reflected by 112 citations of this original article. In the next experiments, we developed several protocols in order to

identify hormonal factors modulated by PSD relevant to promoting good sexual response in male rats. We observed that administration of progesterone after PSD in castrated rats induced an increase in number of erections compared to rats administered testosterone, whereas pre-treatment with the progesterone receptor antagonist significantly reduced the number of erections after sleep deprivation. These results add more evidence to the participation of progesterone in core reproductive events, such as the erection. Regarding clinical findings derived from an epidemiological study, we observed an association between some polymorphisms related to erectile dysfunction complaints and sleep disorders. The line of research initiated in the PhD dissertation of the candidate provided ample evidence for a strong association between reduced sleep and changes in sexual function in male rats and men. Collectively, this thesis presents the main contributions of the candidate to the international literature on the topic of the role of sleep in male sexual function under a translational approach. Thus, it is possible to raise different perspectives to be used for pre-clinical and population studies: a) animal models incorporating different sophisticated methodologies to record penile erection during sleep deprivation; and b) conducting epidemiological studies with polysomnography to identify correlates of complaints of sexual dysfunction related to sleep disturbances. The impact of these studies together with the level of productivity in the scientific field enable us to maintain the excellence of our research group in the topic of "sleep and sexual behavior".

1. REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Função erétil: história, fisiologia e implicações

A ereção peniana é uma das respostas sexuais mais importantes em mamíferos e sua integridade é essencial para o sucesso da reprodução. Constitui-se de um evento neurovascular reflexo mediado pelo estímulo sexual, o qual modula a inervação parassimpática, levando ao relaxamento vascular, ao aumento do fluxo sanguíneo e ao posterior intumescimento dos corpos cavernosos. Existem 2 mecanismos para a ocorrência da ereção: ação central e resposta reflexa. Quando ocorrem estímulos antecipatórios (visão, toque, cheiro e pensamentos, entre outros), há ativação central de regiões cerebrais ligadas à sexualidade, que enviam sinais para haver a vasodilatação peniana, permitindo a entrada de sangue e a compressão das veias, impossibilitando, assim, que o pênis relaxe. A regulação central da ereção, por sua vez, ocorre por meio do processamento e da integração dos diferentes estímulos, envolvendo diversos sistemas neurotransmissores que congregam mecanismos ainda não completamente elucidados. Deste modo, a ereção peniana depende da integração de diversos mecanismos, como, por exemplo, psicológicos, vasculares, endócrinos, neurológicos e miogênicos, desencadeados por resposta reflexa ou estímulo psicogênico de origem central (Burnett et al., 2010).

Por outro lado, há ereções que acontecem mesmo na ausência de um estímulo sexual. Durante o sono, por exemplo, as ereções podem ocorrer por meio da via descendente que passa pela medula espinhal e envia impulsos capazes de ativar o sistema reflexo peniano. A ocorrência desses ciclos de ereção peniana durante o sono foi descoberta em homens adultos no ano de 1944 por Ohlmeyer e

colaboradores, curiosamente quase uma década antes da descrição da existência do sono paradoxal, também denominado sono de movimentos oculares rápidos (REM, do inglês *Rapid Eye Movement*)¹ (Aserinsky e Kleitman, 1953). Nessa época, foi descrito que as ereções relacionadas ao sono (ERS)² apresentavam uma duração média de 25 minutos com um intervalo de 85 minutos (Ohlmeyer et al., 1944). Como consequência desse estudo inicial, no início da década de 60 Oswald (1962) relatou que as ereções acompanhavam alguns períodos de sono REM. Estudos subsequentes demonstraram que havia, de fato, uma forte associação temporal entre a ocorrência da ereção e o sono REM, uma vez que em mais de 95% dos períodos de sono REM os episódios eréteis estavam presentes (Fisher et al., 1965; Karacan et al., 1966 - Figura 1). Da mesma forma, Karacan e colaboradores (1966) observaram que 80% dos períodos de sono REM apresentavam este fenômeno concomitantemente. Adicionalmente, as ereções estavam totalmente ausentes durante a fase do sono de ondas lentas (SOL ou NREM), exceto imediatamente antes e depois dos períodos de sono REM (Fisher et al., 1965).

Sabe-se que os ciclos de intumescimento peniano durante o sono ocorrem em todos os homens saudáveis desde o nascimento até o envelhecimento (Karacan et al., 1972, 1976; Hirsch et al., 1972), independentemente do conteúdo do sonho (Hirshkowitz e Moore, 1996). O tempo de intumescimento durante esse período é de aproximadamente 90 minutos por noite ou 20% do tempo total de sono. Nem todos os episódios de ERS são associados a uma ereção total e, de fato, a incidência de ereções parciais aumenta durante a ERS com o avançar da idade (Kessler, 1988).

¹ Adotou-se a denominação de sono paradoxal para referir ao estágio de sono em roedores, e sono REM como referência em seres humanos.

² Ereções Relacionadas ao Sono (ERS) são também comumente conhecidas como ereções penianas noturnas. Porém, a inclusão do termo "noturno" na designação é contraditória, em virtude das ereções poderem ocorrer em cochilos durante o dia (Sachs, 2000).

Dessa forma, pode-se dizer as ERS são um fenômeno involuntário e apresentam aparente estabilidade individual nos homens saudáveis ao longo da vida.

A natureza autonômica do intumescimento peniano durante o sono permite seu monitoramento em laboratório durante a polissonografia (PSG), o primeiro e provavelmente o melhor dos métodos estabelecidos para a avaliação dos efeitos das alterações orgânicas sobre a capacidade erétil (Schiavi, 1994; Ware et al., 1997). A PSG é um exame no qual os parâmetros do sono são registrados utilizando-se um polígrafo integrado a um sistema de coleta de dados amplificados e computadorizados. Em virtude das alterações das ERS poderem refletir anormalidades nos sistemas vascular, neurológico ou hormonal, a monitoração deste evento é útil no diagnóstico de pacientes portadores de disfunção erétil (DE - Ware et al., 1997) e tem sido usada como uma ferramenta clínica na diferenciação das impotências “psicogênicas” e “orgânicas” (Schmidt, 2000). De modo geral, alguns urologistas acreditam que 70% das causas de impotência são ocasionadas por problemas psicológicos. Nesse sentido, um dos exames realizados para esse diagnóstico é o teste de intumescência peniana noturna, realizada com auxílio de um equipamento específico em laboratórios de sono.

Por diferentes razões, o monitoramento da ERS tem sido uma das primeiras opções no diagnóstico diferencial há décadas. Sua utilização baseia-se no fato de que a verificação de uma ERS normal em homens permite inferir que a fisiologia erétil esteja funcionando normalmente, e que uma possível falha de ereção com um parceiro sexual durante a vigília deva ser psicogênica. Contudo, há relato de que a ocorrência de ERS normal somente demonstraria a capacidade de ereção do corpo peniano e a normalidade da função pró-erétil nos nervos periféricos relacionados e na medula espinhal (Sachs, 2000). Assim, acredita-se que as falhas na ereção por

causas orgânicas resultem da disfunção em várias áreas do sistema nervoso central capazes de afetar a ereção de alguma forma, mantendo, porém, a ERS dentro da normalidade (Sachs, 2000). De forma geral, com o avanço da tecnologia espera-se que novos equipamentos estejam cada vez mais à disposição para um exame mais preciso e detalhado sobre a função erétil em homens com DE ou com problemas de ERS.

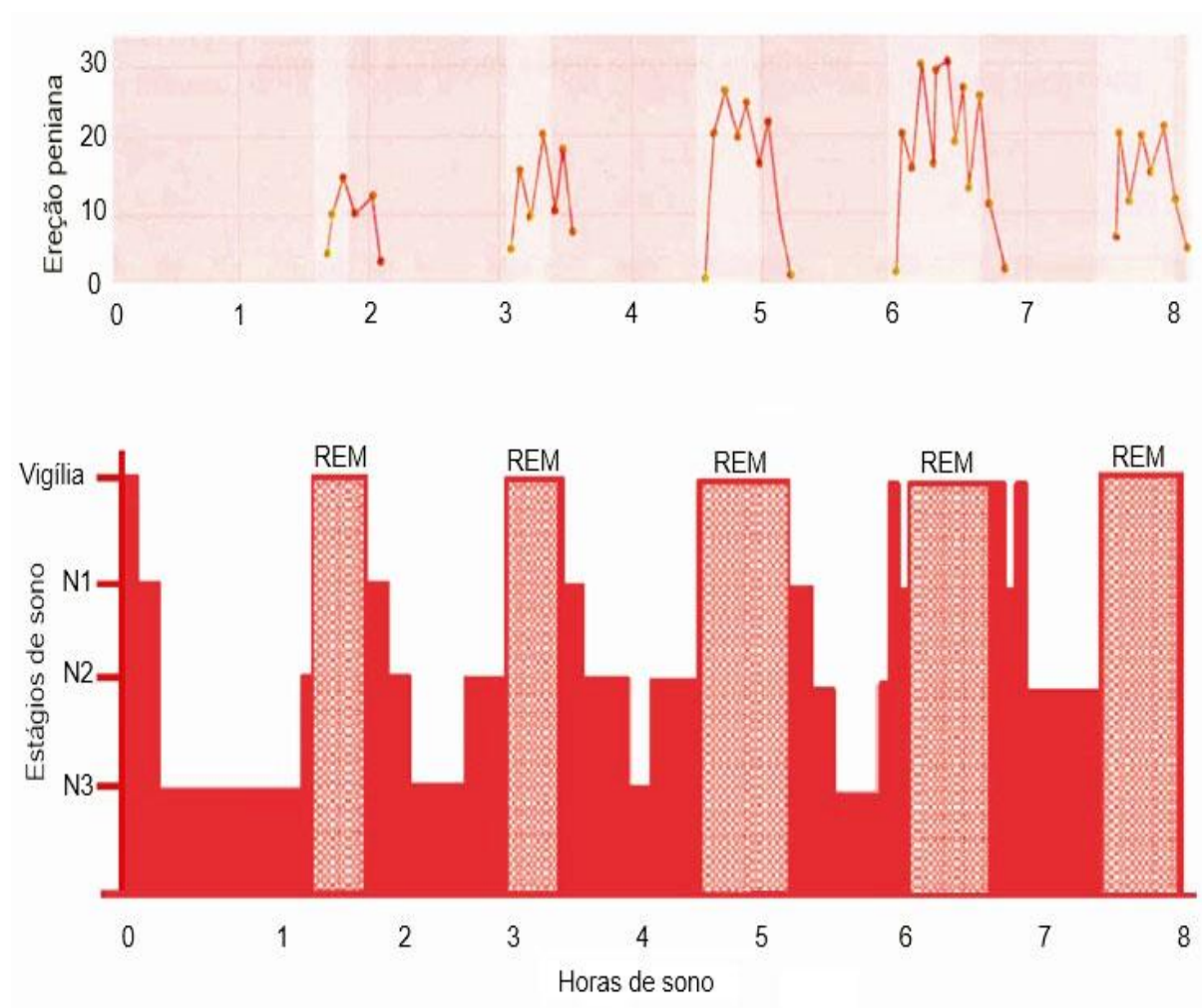


Figura 1 - Hipnograma do sono mostrando a ereção peniana durante o sono REM (Modificado de Schmidt e Schmidt, 2004 e Porkka-Heiskanen et al., 2013).

1.2 Fisiologia das ereções relacionadas ao sono

A função do intumescimento peniano durante o sono ainda permanece um enigma. Por um lado, há uma hipótese de que as ERS repetitivas da infância até a idade adulta podem, potencialmente, participar da atividade diária dos músculos perineais (essenciais na rigidez peniana) e da manutenção do circuito neural erétil a partir do órgão-alvo final até os níveis supra-espinhais, tornando o sistema adaptado como um todo para futuras ereções da vigília na vida adulta. Devido à natureza imprevisível das oportunidades de acasalamento para muitas espécies, torna-se tentador se aventar a hipótese que a atividade de ERS diária desde o nascimento conferiria uma vantagem reprodutiva na produção de uma ereção em relação a um macho competidor que pudesse nunca ter produzido uma ereção peniana antes de seu primeiro encontro sexual (Schmidt, 2000). De fato, Markus Schmidt propôs que essas ereções associadas ao sono REM teriam uma função biológica: servir de treino para a cópula, já que, ao menos na natureza, a sobrevivência depende da reprodução eficiente e os encontros para o acasalamento são repentinos. Esses são alguns dos fatores que tornam a ERS uma das áreas mais fascinantes e misteriosas dos estudos em sono.

Embora mais de meio século tenha se passado desde o descobrimento dos ciclos de ereção peniana durante o sono, infelizmente os mecanismos neurobiológicos das ERS não são muito investigados. Ressalta-se, porém, que a elucidação dos mecanismos eréteis relacionados ao sono e à vigília é essencial para o eventual diagnóstico e tratamento da impotência.

O conceito de que a ereção peniana durante o sono REM reflete a fisiologia em algum local do sistema erétil reside nos dados que suportam algumas proposições:

1. homens potentes deveriam possuir um padrão de ERS dentro de uma certa variação, determinado pelo número de ereções, tempo de duração e relação com os estágios do sono (Karacan et al., 1976);
2. homens impotentes que apresentam uma patologia (ex. diabetes) deveriam ter uma redução das ERS quando comparado a um grupo de homens normais (Karacan et al., 1978);
3. homens impotentes com ERS anormal deveriam se beneficiar da correção das deficiências fisiológicas contribuintes identificáveis, ex. revascularização (Michal et al., 1977);
4. homens impotentes com ERS normal deveriam mostrar perfis psicológicos diferentes (Beutler et al., 1975) e responder ao tratamento comportamental ou psiquiátrico para a impotência;
5. fatores psicológicos não deveriam produzir padrões alterados de ERS, semelhantes àqueles observados na impotência orgânica, se os padrões de sono permanecessem intactos (Karacan et al., 1983; para revisão Ware, 1986).

Algumas evidências a respeito do controle erétil durante o sono REM têm sido debatidas desde seu descobrimento. Karacan e colaboradores (1972) sugeriram que os mecanismos neurais de ambos, sono REM e ERS, não são completamente interdependentes, devido ao início variável do intumescimento em relação ao sono REM e à ocorrência ocasional da ereção peniana durante o SOL/NREM. Ao investigar os eventos de ereção peniana durante o sono em ratos, Schmidt e colaboradores (1994) também especularam que os mecanismos do sono paradoxal não são sempre ligados funcionalmente aos sistemas neurais que controlam o intumescimento, uma vez que a ereção foi observada em 30% dos episódios de sono paradoxal no rato e em 80 a 95% dos episódios de sono REM no homem

(Fisher et al., 1965; Karacan et al., 1966), ao contrário de outros eventos tônicos e fásicos como a atonia muscular e os movimentos oculares rápidos, que ocorrem durante maioria dos episódios de sono paradoxal/REM.

Tem-se investigado também o papel do sistema nervoso autônomo no controle da ERS, uma vez que o padrão de atividade do sistema nervoso autônomo se altera durante o sono REM descobriu-se que ratos da linhagem *Norway* apresentavam em relação ao SOL e à vigília. Durante o sono REM há um aumento geral na atividade parassimpática e a uma diminuição do tônus simpático (Parmeggiani, 1994); por isso, assume-se que o intumescimento durante o sono REM seja resultante dessas alterações autonômicas associadas (Hirshkowitz e Moore, 1996). No entanto, a função do sistema nervoso autônomo no controle erétil durante o sono REM é desconhecida e complexa pela ampla variabilidade na atividade das duas divisões autonômicas, ambas intra e interespécies.

Acredita-se que as ERS sejam resultado de uma diminuição na inibição erétil descendente (Fisher et al., 1975; Schmidt et al., 1994; Giuliano et al., 1995). A ativação reflexa dos mecanismos eréteis espinhais locais é associada a essa desinibição. Uma evidência para esse fato reside no teste da ERS com o uso do equipamento que permite registro da ereção peniana, no qual a impotência “psicogênica” é caracterizada pelas ereções que ocorrem normalmente durante o sono, quando as influências psicológicas inibitórias estão minimizadas. Embora já esteja bem estabelecido que a geração espinhal que controla a ereção peniana esteja sob a inibição tônica descendente durante a vigília (Sachs e Garinello, 1979; Sachs e Bitran, 1990), o nível do controle inibitório durante o sono permanece pouco investigado. Finalmente, não se sabe se a simples remoção de uma inibição descendente é suficiente para a produção da ereção peniana. Dadas as muitas

estruturas projetadas do tronco cerebral para o córtex que se tornam ativas durante o sono REM, diversos estudos têm sugerido que o controle da ERS também possa envolver uma ativação descendente (Hirshkowitz e Moore, 1996; Hirshkowitz e Schmidt, 2005). Novos modelos experimentais, como, por exemplo, registro por meio de telemetria para o estudo da ERS, têm contribuído para a compreensão de sua neurofisiologia.

A técnica de registro crônico da ereção peniana em ratos proposta por Schmidt e colaboradores (1994, 1995) proporcionou a primeira oportunidade de se examinar os mecanismos translacionais da ERS. Os autores realizaram transecções neurais em ratos visando elucidar os efeitos da paraplegia sobre a ereção relacionada ao sono paradoxal e determinar em qual nível cerebral os mecanismos responsáveis pela atividade erétil durante o sono paradoxal seriam gerados. Os resultados indicam que as transecções mesencefálicas degradam a atividade erétil do sono paradoxal, mesmo quando essa fase do sono permanece praticamente inalterada (Schmidt et al., 1994), sugerindo que as estruturas prosencefálicas anteriores à transecção do cérebro rostral são necessárias para a produção das ERS. A análise das lesões revelou que as estruturas candidatas ao controle erétil do sono paradoxal incluem a área pré-óptica lateral (LPOA) e o núcleo basal da estria terminal; contudo, as lesões da LPOA foram as mais efetivas na degradação da atividade erétil durante o sono paradoxal. A lesão da LPOA também resultou em uma insônia prolongada, caracterizada por um aumento significativo da vigília e diminuição do SOL (Schmidt et al., 2000). A arquitetura do sono paradoxal e as ereções da vigília permaneceram inalteradas após a lesão. Esses dados identificam um papel essencial da LPOA, tanto nos mecanismos eréteis relacionados ao sono REM, como na geração do SOL. Além disso, mecanismos eréteis parecem ser

contexto-específicos em virtude das lesões na LPOA atuarem seletivamente sobre as ERS, deixando intactas, todavia, as ereções da vigília. As bases neurais dos mecanismos geradores de ERS precisam ser melhor exploradas, e, ainda, o tronco cerebral parece exercer um papel importante na ocorrência das ERS com participação em vias ascendentes e descendentes (Hirshkowitz e Schmidt, 2005).

1.3 Reflexos genitais e comportamento sexual

O uso de modelos animais possui um papel crucial nas descobertas científicas e nos avanços tecnológicos, fornecendo informações relevantes para o mundo da Ciência e para a vida de seres humanos e dos próprios animais. Em especial, o rato de laboratório é o modelo animal mais utilizado para avaliar a interação das bases neuroendócrinas do comportamento sexual, não somente pela facilidade de manipulação, mas também pela identificação bem estabelecida do seu padrão sexual. Especificamente em ratos, a ereção peniana tem sido investigada numa variedade de contextos diferentes, uma vez que esse comportamento permite a obtenção de mensurações fisiológicas da excitação (Meisel e Sachs, 1994). Os principais modelos de estudo da ereção peniana são descritos abaixo:

1. A ereção sem contato, análoga à ereção “psicogênica” humana (i.e. em resposta à estimulação visual e outras não tácteis). Até recentemente, esses tipos de ereção não eram avaliados; portanto, pouco se conhecia da fisiologia da ereção sem contato. Esta barreira foi efetivamente ultrapassada quando descobriu-se que ratos da linhagem *Norway* apresentavam ereções enquanto expostos a fêmeas estrogênicas inacessíveis (Sachs et al., 1994), em particular a seus odores voláteis (Sachs, 1997), e a partir daí a fisiologia da ereção sem contato tornou-se disponível (Cruz et al., 1999; Liu e Sachs, 1999; Manzo et al., 1999). As ereções que ocorrem

neste contexto são comumente acompanhadas por manipulação genital, movimentos e contrações pélvicas e, ocasionalmente, elevação dos calcanhares das patas posteriores. A ejaculação não tem sido observada durante a ereção sem contato (Sachs, 2000).

2. Há métodos menos naturais de se induzir a ereção peniana em animais dentro de condições laboratoriais para a condução de estudos fisiológicos. A falta de naturalidade de algumas dessas preparações é ressaltada pelo fato do macho ser mantido sob restrição ou anestesiado, por exemplo, para permitir a estimulação elétrica ou farmacológica do cérebro, da medula dorsal ou de nervos periféricos (Marson e McKenna, 1994; Giuliano et al., 1995).

3. Em estudos de machos acordados, livres para se movimentarem, as barreiras relativas às restrições e à anestesia são eliminadas. Este contexto é um dos testes mais comuns da função erétil e é utilizado primariamente para se avaliar os efeitos das drogas sobre a ereção. Ratos machos livres para se movimentarem são colocados sozinhos em uma gaiola após uma ou mais substâncias terem sido injetadas sistemicamente ou dentro do cérebro. Agonistas dopaminérgicos, como a apomorfina, estão entre as drogas mais efetivas e comumente utilizadas para se promover a ereção peniana nesse contexto. As ereções induzidas por drogas administradas sistemicamente ou no sistema nervoso central são também ocasionalmente referidas como “espontâneas” (i.e. na ausência de um estímulo feminino receptivo) ou induzidas por drogas. O comportamento motor associado a essas ereções é semelhante àquele descrito acima para a ereção sem contato. Durante a ereção e em virtude das flexões dorsais características do pênis causadas pela retração da membrana prepucial, a ejaculação pode ocorrer. Após a emissão

seminal espontânea ou ejaculação, o sêmen coagula e forma um “plug”, que é normalmente ingerido pelo rato durante a automanipulação genital.

A cópula é, provavelmente, o comportamento mais natural e mais frequentemente examinado nos testes de laboratório sobre a função sexual, e há homologias claras entre o comportamento copulatório humano e o de muitas espécies animais (Pfaus, 1996). As condições de teste do comportamento copulatório animal variam de um espaço usual altamente restrito no qual um casal macho-fêmea é observado, até um espaço mais natural, que proporciona à fêmea um controle maior sobre a frequência da cópula. Além disso, grupos com vários machos e fêmeas podem aceitar a ocorrência de competição entre os pares (McClintock, 1984).

O comportamento copulatório envolve respostas penianas associadas à intromissão e à ejaculação, bem como padrões comportamentais mais óbvios associados à aproximação de uma fêmea. As características particulares do comportamento copulatório podem, de fato, ser intimamente relacionadas às respostas penianas e aos mecanismos medulares que as controlam.

Em ratos, o comportamento sexual é representado por montas, sem ou com inserção peniana, culminando com a ejaculação. A fêmea receptiva responde a cada movimento do macho com uma lordose, caracterizada pela dorsoflexão, elevação da região pélvica e deflexão lateral da cauda para melhor acesso do macho à vagina. A *monta* é caracterizada pela presença de movimentos pélvicos do macho; porém, sem inserção do pênis na vagina da fêmea (Figura 2A). Por sua vez, a *intromissão* (montas com inserção peniana) se diferencia da monta por apresentar movimentos pélvicos profundos, seguidos de uma desmonta mais abrupta (Figura 2B). Geralmente, o macho consegue fazer a penetração vaginal em 50 a 80% das intromissões. Finalmente, a *ejaculação* caracteriza-se por inserção pélvica profunda

(com emissão do líquido seminal dentro da vagina), seguida de movimento lateral da pata anterior e uma desmonta lenta (Figura 2C). Ocorre depois de 6 a 12 intromissões, seguida de um período refratário de 4 a 8 minutos (no qual o macho não apresenta nenhuma atividade copulatória, independentemente da presença da mesma fêmea). Tem sido proposto que as intromissões obrigatórias que caracteristicamente precedem as intromissões ejacutórias no rato macho podem ser um reflexo da inibição espinal local da resposta ejacutória produzida pela estimulação do pênis que ocorre durante as intromissões. A ejaculação ocorre somente quando essa inibição espinal é sobrepujada (Hart e Odell, 1981; Hart e Melese-D'Hospital, 1983; Andersen e Tufik, 2005).

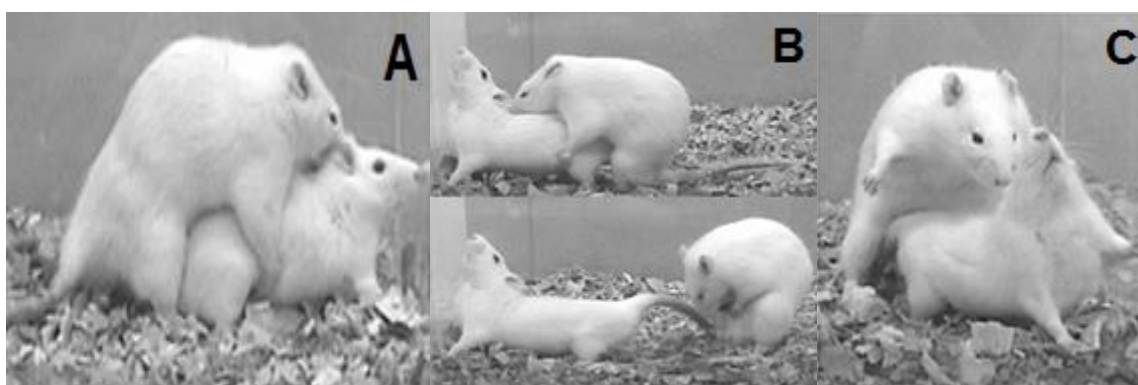


Figura 2 - Representação dos padrões de comportamento sexual em ratos machos. (A) Montagem; (B) Intromissão; (C) Ejaculação. Fonte: Manzo et al., 2002.

A atividade copulatória masculina nos mamíferos envolve a ativação de 3 componentes interativos (Moralí e Beyer, 1992):

1. Componente motor, que define a coordenação dos músculos que participam durante a montagem e a execução de movimentos pélvicos rítmicos e alternados. Os movimentos copulatórios pélvicos de intromissão podem induzir ou

intensificar uma postura receptiva por parte da fêmea, o que facilita a inserção peniana intravaginal e, eventualmente, a ejaculação;

2. Componente genital externo, que inclui respostas vasculares e musculares que determinam a ereção e a inserção dentro da vagina;

3. Componente genital interno, que compreende as atividades contráteis autonômicas e somáticas dos vários órgãos envolvidos na emissão seminal da ejaculação (Moralí et al., 2003).

Tem sido descrito que a experiência copulatória pode alterar o comportamento sexual de ratos machos (Meisel e Sachs, 1994) e que alguns ratos apresentam atividade sexual reduzida na presença de uma fêmea receptiva (Bialy et al., 2000; Sura et al., 2001). Por exemplo, Chu e colaboradores (2008) relataram que alguns ratos apresentavam baixo índice de motivação espontânea e comportamento copulatório durante a primeira exposição à fêmea. Além disso, sabe-se que a experiência sexual resulta de alterações comportamentais e também hormonais que são decorrentes da quantidade de exposições ou intensidade do treino ao qual o animal foi exposto. Em resumo, o comportamento sexual masculino sofre influência de uma série de fatores, e ainda a experiência sexual pode modular a resposta copulatória.

1.4 Regulação hormonal da resposta sexual masculina

Existem inúmeros estudos que demonstram a influência dos fatores hormonais como determinantes da expressão global da atividade copulatória. A expressão masculina do comportamento sexual em mamíferos é modulada pela ação de andrógenos que regulam o desenvolvimento e a manutenção das características masculinas, incluindo a atividade e o desenvolvimento dos órgãos

sexuais. Desse modo, as alterações nas concentrações desses hormônios circulantes podem acarretar mudanças nesse comportamento.

A testosterona é um dos principais hormônios no comportamento sexual masculino. É secretada pelas células de Leydig nos testículos e metabolizada em estradiol (E_2) por meio da enzima aromatase, ou em dihidrotestosterona (DHT) com o auxílio da enzima 5α -redutase. A testosterona plasmática é indetectável após 24 horas de castração (Krey e McGinnis, 1990), enquanto a atividade copulatória diminui gradualmente ao longo dos dias ou semanas subsequentes (Cross e Roseli, 1999). Ratos machos adultos submetidos a estresse durante a fase pré-natal apresentam diminuição nos níveis de testosterona e, conseqüentemente, redução da atividade copulatória (Gerardin et al., 2005). Em 2006, Pereira e colaboradores demonstraram que a administração neonatal de testosterona em filhotes machos de mães estressadas durante a gestação foi capaz de inibir os prejuízos no comportamento sexual na fase adulta desses ratos.

Diversos estudos mostram que ratos sexualmente experientes apresentam um aumento na concentração de testosterona plasmática (Manzo et al., 2002; Wu e Gore, 2009), bem como um aumento nos níveis de testosterona no hipocampo (Edinger e Frye, 2007). Ainda, essa alteração da concentração de testosterona pode ser decorrente da atividade da enzima aromatase, uma vez que a testosterona também é metabolizada no cérebro por meio da aromatização em estradiol. Assim, a conversão da testosterona em estradiol poderia apresentar um papel importante na indução do comportamento de lordose em ratos machos (Beyer et al., 1976). Portillo e colaboradores (2006) confirmaram a hipótese de que a concentração da enzima aromatase no cérebro é menor em ratos que não apresentam nenhum comportamento sexual. Nesse sentido, pode-se afirmar que o estradiol também está envolvido no repertório do comportamento sexual.

Além desses estudos, algumas evidências mais recentes têm voltado a atenção para outro hormônio, a progesterona. Assim, além da testosterona e do estradiol, há evidências que indicam a influência da progesterona na função sexual masculina. De fato, a progesterona pode facilitar o comportamento sexual masculino em répteis (Lindzey e Crews, 1986; Crews et al., 1996) e em ratos (Witt et al., 1994). Ainda, há relatos de que a suplementação de progesterona em ratos machos castrados foi capaz de induzir respostas sexual, mesmo na ausência de outros esteróides gonadais (Witt et al., 1994, 1995). Os autores deste estudo demonstraram ainda que a testosterona isoladamente não é eficaz em restaurar as respostas sexuais típicas nos machos, a menos que as concentrações de progesterona estejam elevadas.

Além do comportamento sexual, hormônios também podem estar relacionados com a produção espermática. De fato, hormônios gonadotróficos como o folículoestimulante (FSH) e luteinizante (LH) são essenciais para a formação de espermatozóides (para revisão Sofikitis et al., 2008; Walker, 2009; Ruwanpura et al., 2010). Esses hormônios (especialmente o FSH) estão envolvidos principalmente no processo de divisão celular da espermatogênese, que consiste na produção de espermatozoides (Lo et al., 2004). Alguns estudos mencionam que o FSH estaria envolvido no início do processo da espermatogênese, agindo principalmente na proliferação das espermatogônias ou no processo de meiose (ver revisão de Valenti et al., 2013). Considerando que a testosterona potencializa a ação do FSH (Handelsman, 1996), há a possibilidade de a testosterona também estar envolvida na estimulação do processo de diferenciação das espermátides. Além disso, a testosterona tem sido considerada um suporte para a diferenciação completa das espermátides (Mclachlan et al., 1995; Singh e Handelsman, 1996; Sousa et al., 2002). A secreção de LH é regulada

pelo mecanismo de *feedback* em função da concentração plasmática de testosterona circulante, que controla a secreção pela hipófise e pelo hipotálamo (Hermo e Clermont, 1995). De modo similar, a secreção de FSH é regulada pela testosterona plasmática e também pela inibina, hormônio peptídico produzido pelas células de Sertoli.

Adicionalmente, a progesterona também vem sendo relacionada ao processo de diferenciação celular da espermatogênese. Foi demonstrado em homens que a progesterona exerce uma influência na espermiogênese em relação à capacitação espermática, à reação acrossômica e principalmente à biossíntese de testosterona nas células de Leydig (Oettel e Mukhopadhyay, 2004).

Respostas hormonais podem ser desencadeadas por diversos fatores, sendo o aparecimento de sintomas característicos do estresse uma das principais repercussões de perturbações hormonais. Nesse contexto, muitos dos efeitos prejudiciais da exposição prolongada a fatores estressantes são causados por nossas próprias reações fisiológicas (secreção de hormônios associados ao estresse). Contudo, a maneira pela qual cada organismo reage ao estímulo estressor depende da sua capacidade física e psicológica. Nos dias atuais, viver sob estresse é uma constante, seja em casa, no trabalho ou em outros ambientes sociais dos quais o indivíduo faça parte. Assim, pode-se dizer que o estresse faz parte do cotidiano de pelo menos boa parte da população. Não obstante, os níveis de estresse estão diretamente relacionados a problemas de sono (Andersen, Hirotsu e Tufik, submetido).

1.5 Privação de sono e função sexual

O sono é uma atividade que ocupa cerca de um terço de nossas vidas, e é fundamental para uma boa saúde mental e emocional, além de apresentar importância essencial na manutenção saudável do organismo. No entanto, nosso período total de sono tem-se reduzido em função das atividades contemporâneas.

Principalmente após a Revolução Industrial, com o rápido desenvolvimento da economia, observou-se uma crescente tendência de diminuição do tempo de sono na população em geral. De fato, existe um claro contraste entre os hábitos de sono atuais e os hábitos apresentados na era Pré-Industrial (Foster e Wulff, 2005). Além disso, a exposição à luz artificial ampliou o período das atividades de lazer, aumentando o tempo de vigília. A rotina de vida moderna afeta de maneira substancial o estilo de vida da população.

A globalização, o acesso à internet e à informação somados ao estímulo à competição vindo de uma visão capitalista mundial promoveram uma aceleração na maioria das sociedades, acumulando-se horas de trabalho e reduzindo-se cada vez mais as horas de descanso e sono dos seres humanos. Assim, a privação de sono constitui-se um fator estressante que foi se instalando paulatinamente nas sociedades, e que atinge índices alarmantes nos dias atuais. Essas questões socioeconômicas e culturais resultam em uma redução dramática no tempo de sono e, conseqüentemente, em uma situação de débito de sono. A restrição crônica de sono, motivo pelo qual se cria esse débito, é frequentemente relacionada a imposições da vida moderna, como por exemplo, responsabilidades profissionais, atividades sociais e domésticas e estilo de vida, além da privação voluntária de sono. Nesse sentido, tem havido debates consideráveis sobre a necessidade diária de sono do homem moderno, tema que tem sido alvo de muitos estudos. Embora o

sono ocupe aproximadamente um terço do nosso tempo de vida, é cada vez maior o tempo que todos nós passamos acordados atualmente. Um exemplo disso são os estudos recentes mostrando que o tempo de sono diminuiu cerca de 2 horas por noite nos últimos 50 anos (National Health Interview Survey, 2005; Roth, 2009). Dessa forma, a pressão sobre o sono continua crescendo em uma sociedade que aceita como prática comum o turno noturno de trabalho e a realização de atividades de lazer que refletem em poucas horas de sono com consequente inversão do ritmo biológico. É importante ressaltar que a perda frequente do sono não ocorre somente entre os adultos, mas também entre crianças e adolescentes. Em vários países, mais de um quinto das crianças abaixo de 16 anos (entre infância e puberdade) sente-se cansado quase todos os dias pela manhã devido ao fato de irem dormir tarde e acordarem muito cedo para ir à escola (Meerlo et al., 2008). Como resultado, o estresse e as perturbações circadianas consequentes podem ser responsáveis por alguns dos efeitos adversos atribuídos à falta de sono.

O débito de sono ocasiona inúmeras alterações de comportamento durante o dia, causando sensação de sonolência diurna, fadiga, prejuízos na concentração, falta de energia e irritabilidade, entre outros. Além disso, prejudica o desempenho profissional, interfere nas relações com as outras pessoas e diminui a qualidade de vida. Mesmo quantidades moderadas de redução de sono produzem pelo menos 3 efeitos consistentes: sonolência, perturbações de humor e comprometimento de desempenho. Após alguns dias de restrição contínua de sono, ocorrem microssonos, períodos breves que duram de 2 a 3 segundos nos quais as pálpebras fecham e os indivíduos ficam menos responsivos aos estímulos externos, mesmo permanecendo sentados ou em pé. Os microssonos atrapalham o desempenho em testes de

vigilância, mas não são necessários para que esses prejuízos ocorram (Dinges et al, 1997; Ferrara, De Gennaro e Bertini, 1999).

Essa condição de falta de sono, quase que inerente à vida moderna, pode levar a repercussões nítidas na saúde e no bem-estar tanto a curto como a longo prazo. Não apenas a perda do tempo total de sono, em quantidade, mas também a qualidade do sono pode acarretar prejuízos importantes para o nosso organismo (Everson et al., 1989; Lebowitz et al., 2006; Bijwadia e Ejaz, 2009; Tufik et al., 2009). Essas modificações podem ser evidenciadas pelo aumento na prevalência de distúrbios de sono na população ao longo dos anos (Bittencourt et al., 2009).

Em relação à perda de qualidade de sono, destaca-se a Síndrome da Apneia Obstrutiva do Sono (SAOS), um dos distúrbios mais prevalentes atualmente. A SAOS é caracterizada por episódios recorrentes de obstrução das vias aérea superiores que levam a interrupções intermitentes da ventilação, alteração dos gases arteriais e do padrão normal de sono (American Academic Sleep Medicine - AASM, 1999). Na maioria dos pacientes, esses eventos causam dessaturação da oxihemoglobina e, em casos de eventos prolongados, hipercapnia, que frequentemente são seguidas de despertares, tornando o sono fragmentado e consequentemente levando a uma privação crônica de sono (AASM, 1999). Ainda, descreve-se redução no tempo de sono REM em decorrência da fragmentação de sono (Goh et al., 2000).

Os pesquisadores têm desenvolvido diversos estudos sobre os mecanismos envolvidos no diagnóstico (Perry et al., 2007; Drager et al., 2011, 2013; Jun et al., 2012) bem como no tratamento (Bittencourt et al., 2001, 2008; Togeiro e Smith, 2005; Drager e Lorenzi-Filho, 2012) da SAOS. Desde a década de 1980, inquéritos populacionais têm sido realizados para avaliação das queixas de sono na cidade de

São Paulo (Braz et al., 1987; Bagnato et al., 2000). Pacientes com SAOS apresentam diversas consequências importantes, como obesidade, alterações hormonais, sexuais, metabólicas e cardiovasculares, entre outras. Diversos estudos mostram a obesidade como o fator principal que, quando associado à SAOS, leva ao comprometimento da função reprodutiva (Hammoud et al., 2011, 2012).

Recentemente foi concluído o terceiro estudo populacional denominado EPISONO incluindo 1042 indivíduos, com o objetivo de traçar o perfil epidemiológico dos distúrbios de sono para a população adulta da cidade de São Paulo em 2007 (Santos-Silva et al., 2009). Estimativas desse estudo indicam que metade da população investigada apresentou índice de apneia-hipopneia (IAH) acima de 10, indicando a alta prevalência de SAOS entre indivíduos do sexo masculino (40%) (Tufik et al., 2010).

Para tentar esclarecer a importância que o sono exerce no organismo e como sua falta pode modular as funções biológicas, diferentes metodologias experimentais vêm sendo utilizadas. No meio científico, a privação de sono tem sido amplamente utilizada como instrumento para estudar as funções do sono, bem como os mecanismos envolvidos nesse comportamento. Entre os protocolos de privação de sono, destacam-se a privação total de sono, a restrição de sono (RS) ou a privação seletiva de uma fase do sono, como por exemplo, a privação de sono paradoxal/REM. De fato, no modo de vida atual, a maior parte da privação de sono ocorre no período de predominância do sono paradoxal/REM, na segunda metade da noite. Muitos investigadores têm desenvolvido e empregado diferentes metodologias para a redução ou abolição do sono paradoxal; portanto, muitos dos estudos sobre a privação de sono têm utilizado a privação de sono paradoxal (PSP).

Em ratos, a privação de sono induzida pela técnica de plataforma múltipla envolve numerosos despertares, que afetam predominantemente a fase paradoxal do sono. Por isso, argumenta-se que esse procedimento poderia mimetizar a fragmentação do sono devido a despertares repetidos (como, por exemplo, o que acontece na SAOS), e, assim, ser uma ferramenta útil para a investigação dos efeitos da perda de sono sobre os mais diferentes parâmetros de interesse. Isso não implica que a privação de sono seja um modelo animal completo da perda de sono que acontece em humanos, mas promove consequências semelhantes e translacionais para se estudar mais profundamente a neurobiologia do sono e as alterações provocadas pela sua perda. Uma vez que cada sistema orgânico possui um papel distinto e crítico na adaptação de mudanças ambientais contínuas e desafiadoras, torna-se fundamental a condução de estudos visando investigar a maneira pela qual esses sistemas são afetados pela privação de sono.

Na literatura encontra-se documentada uma ampla variedade de efeitos negativos da falta de sono sobre o desempenho cognitivo (Moreira et al., 2003; Alvarenga et al., 2008; Zanini et al., 2012), a ansiedade (Suchecki et al., 2002; Andersen et al., 2005a), atenção (Godoi et al., 2005) e o comportamento sexual (Velazquez-Moctezuma et al., 1996; Damasceno et al., 2008), além de modificações hormonais (Antunes et al., 2006; Jauch-Chara et al., 2013) e alterações marcantes no sistema imunológico (Bryant et al., 2004; Ruiz et al., 2007; Zager et al., 2007, 2013). Nesse contexto, é de grande importância a adoção de modelos animais em experimentos de restrição crônica de sono, por exemplo, considerada um problema de saúde pública na sociedade atual (Lebowitz et al., 2006; Sigurdson e Ayas, 2007; Alghanim et al., 2008; Tufik et al., 2009). Dessa forma, é relevante avaliar as consequências de diversos fatores que possam afetar o sono por meio do uso de modelos animais e de suas validações,

permitindo também a realização de avaliações bioquímicas, farmacológicas, neuronatômicas e comportamentais, entre outras associadas à supressão de sono.

Como mencionado anteriormente, a situação atual de restrição crônica de sono, somada à presença de outros distúrbios de sono, constitui um importante tópico de investigação (Sigurdson e Ayas, 2007; Alghanim et al., 2008; Tufik et al., 2009). Diversos são os estudos que relacionam a RS e os distúrbios de sono às consequências adversas para a saúde, como aumento da secreção de cortisol (Spiegel et al, 1999) e da pressão arterial (Kato et al, 2000; Knutson, 2010), além de outras doenças cardiovasculares (Drager et al., 2013; Cintra et al., 2009) e alterações metabólicas (Martins et al., 2006; Andersen et al, 2009; Alvarenga et al., 2011; Andersen, Hirotsu e Tufik, submetido).

A compreensão da fisiologia do sono e da vigília tem governado o interesse de numerosos estudiosos nas últimas décadas, fazendo com que a função do sono atraia a atenção dos pesquisadores, sendo que os efeitos de sua perda também caminham na mesma direção. Todavia, o entendimento global do impacto sobre a saúde e as condições clínicas em consequência da privação de sono permanece ainda desconhecido. Em particular, as consequências da PSP sobre a função sexual vinham sendo pouco estudadas. Nesse sentido, a busca por novos conhecimentos sobre esta temática tornou-se relevante.

Desde os anos 60, Dement (1965) relatou o efeito da privação de sono sobre o comportamento sexual tanto em humanos como em animais. Primeiramente, ele estudou 12 gatos machos privados de sono por 30 dias. Os resultados mostraram que em 6 deles houve aumento marcante no comportamento sexual, enquanto no grupo controle de 12 gatos machos não houve nenhuma alteração. De maneira semelhante, em outro estudo verificou-se igualmente que um período de PSP maior

que 8 dias levava à indução de hipersexualidade em gatos (Vimont-Vicary et al., 1966). Anos mais tarde, Fergunson e Dement (1969), em experimentos com ratos machos privados de sono paradoxal, verificaram a ocorrência de montas sem orientação espacial após a administração de anfetamina. Deve-se salientar que o comportamento sexual não foi o propósito principal desses estudos mencionados.

Na década de 1980, o grupo liderado por Velázquez-Moctezuma continuou nesse campo de estudo avaliando os efeitos da PSP sobre o comportamento sexual em ratos, com foco na ação sobre os esteroides gonadais. Para isso, ratos machos gonadectomizados foram submetidos à PSP durante 120 horas. Uma vez que a PSP facilita a indução do comportamento de lordose em fêmeas tratadas com benzoato de estradiol, suas respostas sexuais hetero e homotípicas a esse hormônio foram testadas (Velazquez-Moctezuma et al., 1984). Esse estudo também foi baseado no fato de que o propionato de testosterona e a progesterona podem desencadear resposta sexual feminina em machos (Davidson e Levine, 1969; Sodersten e Larsson, 1975). Assim, a conversão da testosterona em estradiol poderia apresentar um papel importante na indução do comportamento de lordose em ratos machos (Beyer et al., 1976). Os resultados desses testes demonstraram que a PSP por si só não produziu a resposta de lordose, contudo, um efeito marcadamente positivo foi visto após o tratamento com estrógeno sobre o comportamento sexual feminino comparado com grupos não-PSP (Canchola et al., 1986).

Pouco tempo depois, Velázquez-Moctezuma e colaboradores (1989) exploraram a possibilidade de que a PSP poderia induzir alterações na ação de outro esteroide gonadal, a testosterona, em estimular o comportamento sexual masculino de ratos machos adultos castrados. O número de dias de tratamento com a testosterona necessário para se atingir resposta em 50% dos animais no grupo de

PSP por 7 dias foi aproximadamente metade daquele necessário para se obter a mesma resposta no grupo controle, sugerindo que a PSP facilitaria os efeitos da testosterona no comportamento sexual masculino, da mesma forma que facilitaria os efeitos do estrógeno no comportamento sexual feminino.

Com base na investigação dos efeitos de diferentes modalidades de estresse pré-natal sobre o comportamento sexual do adulto, Velázquez-Moctezuma e colaboradores (1993) relataram que ratos machos oriundos de ratas prenhes submetidas à PSP durante 5 dias demonstraram diminuição da eficiência copulatória. Como cada agente estressante produziu um efeito comportamental distinto, os autores concluíram que o comportamento sexual induzido pelo estresse pré-natal era ligado à natureza do agente estressor. Em um estudo em que a PSP foi aplicada durante 7 dias em ratos neonatos, demonstrou-se a diminuição da atividade sexual na idade adulta, indicada por menor número de montas, intromissões e ejaculação, quando comparados com os do grupo controle (Feng e Ma, 2003). Segundo os autores, esses achados dão suporte à hipótese de que a privação de sono durante o período neonatal resulta em anormalidades comportamentais na vida adulto.

Embora os estudos mencionados anteriormente tenham investigado de alguma forma o comportamento sexual e ainda envolvam diferentes metodologias de privação de sono, o comportamento copulatório do macho na presença da fêmea foi investigado pioneiramente por Morden e colaboradores (1968) que relataram que ratos machos com baixo índice copulatório apresentaram aumento do número de cópulas após a PSP realizada por um período de 2 a 5 dias. De acordo com Verma e colaboradores (1989), a PSP por 3 a 4 dias resultou em uma potencialização do comportamento sexual em ratos, já que houve aumento da frequência de intromissões e redução da latência para ejaculação e do intervalo entre elas. Por outro lado, no estudo de Hicks e colaboradores

(1991), os ratos privados de sono paradoxal não mostraram alterações significativas em seu desempenho sexual, levando os autores a concluir que, se existe a relação entre a PSP e o comportamento sexual, é, na melhor das hipóteses, bem tênue.

Em 1996, um estudo sobre os efeitos da PSP sobre o comportamento sexual em ratos machos (Velázquez-Moctezuma et al., 1996) trouxe mais subsídios para essa controvérsia. Esses autores avaliaram grupos de animais submetidos à PSP por 16 ou 24 horas, diariamente, durante 20 dias. Os resultados demonstraram que no grupo submetido à PSP de 24 horas houve diminuição na porcentagem de ratos que apresentavam monta, intromissões e ejaculação, quando comparados tanto com o grupo submetido à PSP de 16 horas quanto com o controle. Os animais submetidos à PSP de 16 horas apresentaram-se sexualmente ativos durante o período experimental avaliado, contudo, nenhuma alteração no desempenho sexual foi observada em relação ao grupo controle. Assim, esses dados indicam que a PSP pode interferir com os mecanismos que regulam o comportamento sexual do macho; porém, a extensão da participação das condições de estresse deveria ser considerada como um fator relevante envolvido nesse efeito.

Interesse sexual elevado foi também demonstrado em indivíduos do sexo masculino privados de sono REM por 2 noites por meio de estímulos aplicados imediatamente antes do início dos episódios de sono REM (Zarcone et al., 1974). O interesse sexual foi definido pelo número de fotografias nas quais os indivíduos se fixaram em uma figura feminina. Além disso, os pacientes com impotência psicogênica demonstraram aumento do intumescimento peniano e rigidez após 24 horas de privação de sono sob estimulação audiovisual experimental (Ferini-Strampi et al., 1996).

Conjuntamente, esses poucos artigos denotam um cenário controverso em relação aos efeitos da privação de sono na resposta sexual masculina, e, portanto, o

quadro permanece obscuro e é nesse cenário que a candidata inseriu sua principal linha de pesquisa. A busca de novas hipóteses fisiológicas tornou-se indubitavelmente necessária em razão da importância da integridade da função sexual para a manutenção da qualidade de vida, cenário no qual que o sono exerce papel crucial. A investigação por respostas nessa linha de pesquisa impulsionou a realização dos estudos descritos a seguir.

2. CONTRIBUIÇÕES CIENTÍFICAS DA CANDIDATA

A partir deste ponto, descrevo os achados da literatura, os artigos relacionados diretamente a esse tema e as minhas contribuições para o entendimento da função sexual masculina associada ao sono. Em particular, essas evidências publicadas pelo nosso grupo aconteceram nas mais diversas áreas sob ótica translacional: bases mecanicistas, perfil hormonal, condições clínicas e, ainda, aspectos epidemiológicos e genéticos. A reflexão natural como resultante do processo de preparação desta Tese permitiu visualizar que as principais contribuições versam sobre a caracterização dos reflexos genitais e do comportamento sexual, bem como sobre a neuroendocrinologia envolvida na função sexual masculina associada ao sono. Nesse documento são apresentados apenas os estudos mais relevantes na área diretamente relacionada com esses temas, não sendo incluídos artigos direcionados para a investigação de processos neuroquímicos da função sexual. Esses estudos realizados pelo nosso grupo não fazem parte do corpo deste documento, mas a lista deles pode ser encontrada na descrição da produção científica (Memorial, páginas 122-154). Assim, serão apresentados somente estudos em que a candidata atuou como primeira autora ou autora principal nas duas áreas (caracterização da função sexual masculina em animais e homens, e regulação hormonal em resposta a privação/distúrbio de sono em modelos animais/homens). O texto que se segue foi subdividido em 5 tópicos com a intuição de que o leitor possa compreender melhor a sequência de pensamentos e estratégias empregadas pela candidata para ilustrar as questões de pesquisa formuladas e os resultados obtidos ao longo desses 13 anos.

2.1 Fenômeno de reflexo genital em resposta à privação de sono

O sono paradoxal/REM é um fenômeno presente em todas as faixas etárias e na maioria das espécies. Há uma grande necessidade do sistema fisiológico de recuperar esta fase do sono; caso uma recuperação adequada não seja permitida, a morte pode se seguir após um período prolongado de sua privação (Rechtschaffen et al., 1989ab). Também já foi relatado que o sono REM é afetado em diversas condições clínicas, indicando que essa fase do sono deve ser absolutamente necessária para a manutenção da fisiologia normal e dos processos vitais.

Até o momento, as evidências sugerem que, embora as bases fisiológicas do sono paradoxal/REM sejam desconhecidas, essa fase é uma das mais relevantes dentre as que constituem a arquitetura do sono e, portanto, não pode e não deve ser ignorada. A menos que seus mecanismos básicos de geração e suas funções sejam conhecidos, as consequências de perturbações ocorridas nessa fase permanecerão um mistério. Diversos tipos de estudo, incluindo a estimulação e lesão de estruturas supostamente relacionadas ao sono paradoxal, injeções químicas, e principalmente a privação dessa fase do sono têm sido conduzidos para a investigação e compreensão de seus mecanismos (Gulyani et al., 2000). Como vantagens, diferentemente de muitos outros, o método da privação de sono paradoxal não é invasivo, simulando uma situação natural no sentido de que, no modo de vida atual, muitos indivíduos sofrem privação de sono REM, predominantemente na segunda metade da noite por despertares precoces ou fragmentação do sono. Contudo, o estudo do sono paradoxal/REM continua a ser um desafio para a maioria dos pesquisadores que investigam o ciclo vigília-sono.

Se por um lado a ereção peniana é um evento neurovascular modulado por fatores psicológicos, neuroquímicos e hormonais, cujo resultado final é o relaxamento da musculatura lisa do pênis, as ERS representam um fenômeno com uma complexa interação entre o sistema nervoso central (SNC) e bases endócrinas, e demais mecanismos ainda não são conhecidos. De fato, um primeiro aspecto relevante na análise da literatura sobre ERS é a escassez de estudos sobre o tema. Por consequência, elaborou-se um constructo hipotético na tentativa de identificar contribuintes mecanicistas para a resposta erétil e sexual sob interferência do sono. Baseado nesse aspecto, nos guiamos pelo conjunto limitado de estudos para inserir nosso raciocínio apresentado abaixo.

Classicamente, sabe-se que o sono paradoxal/REM apresenta eventos tônicos e fásicos. Os eventos tônicos ocorrem de forma persistente por todo o período de sono paradoxal/REM, incluindo atividade cerebral intensa (dessincronização) e atonia muscular. Os eventos fásicos ocorrem de forma intermitente, e são: mioclonias, irregularidades cardiorrespiratórias, movimentos oculares e ERS. A importância do sono paradoxal/REM pode ser inferida por meio da supressão dessa fase e da necessidade de sua compensação, uma resposta normal ao desequilíbrio homeostático provocado pela PSP.

Ainda é um enigma decifrar as funções das ERS apresentadas pelos homens todas as noites durante o sono REM desde a infância até a vida adulta. Na tentativa de fornecer mais evidências sobre esses eventos penianos durante o sono, nos enveredamos por essa linha de pesquisa, com a hipótese principal de que após períodos de PSP o organismo tem necessidade aumentada de compensar essa fase do sono. Esse aumento de duração do sono durante o período rebote tem sido considerado como sendo um reforço da regulação normal do sono (Charifi et al.,

2000). Durante esse rebote de sono ocorre um aumento expressivo dos eventos tônicos e fásicos. Assim, especulamos que a ausência desses eventos nos dias de abolição completa do sono paradoxal por 96 horas fosse ser compensada com uma recuperação desses eventos tônicos e fásicos (entre eles, a ereção peniana) ao final da PSP. Portanto, esse rebote de ereção peniana teria bases neurofisiológicas, neuroquímicas e hormonais promovidas pela PSP, e seria uma tentativa fisiológica de recuperar a ausência das ereções penianas que deveriam ter ocorrido durante o sono. Considerando a relevância homeostática e circadiana dos eventos do sono paradoxal/REM, a importância prática de se estudar a ERS consiste na necessidade de fornecer subsídios para etiologias neurogênicas e endócrinas, e ainda um eventual diagnóstico mais preciso das impotências. Nesse sentido, nossos achados denotam uma função prioritária da ocorrência desse rebote de ereção nos ratos privados de sono paradoxal, representada pelo aumento expressivo dos reflexos genitais nos machos submetidos a 96 horas de privação seletiva dessa fase específica de sono.

Para comprovar a hipótese das alterações comportamentais decorrentes da PSP, ratos machos foram submetidos a esse protocolo. Curiosamente, observamos que animais privados de sono paradoxal apresentaram ereções e ejaculações espontâneas, enquanto esses reflexos genitais eram ausentes no grupo controle com padrão de sono normal. Considerando a participação dopaminérgica no sono paradoxal (Tufik et al., 1978) e nas respostas sexuais (Hull et al., 1986), os animais PSP receberam uma injeção-desafio de uma substância que potencializa a neurotransmissão dopaminérgica (cocaína) no intuito de avaliar se os eventos genitais poderiam ser potencializados (**ARTIGO 1**). Uma curva dose-resposta foi realizada para se determinar a dose de cocaína mais eficaz na indução de eventos genitais (ereção e ejaculação). A dose de 7

mg/kg (via intraperitoneal) administrada logo após a PSP foi a mais eficaz na promoção de ereções penianas; assim sendo, nos demais estudos essa foi a dose de escolha.

Uma vez que os fatores de estresse são inerentes ao método e à privação de sono propriamente dita, também foram testadas outras modalidades de estresse (Tufik et al., 1995; Papale et al., 2005), visando distinguir o efeito isolado da privação de sono do efeito relacionado ao estresse sobre os reflexos genitais (**ARTIGO 1**). Somente os animais PSP mostraram um aumento significativo dos reflexos em relação aos outros estressores (natação forçada, choque elétrico nas patas e imobilização crônica), indicando um papel relevante da perda de sono na modulação desses comportamentos. Com base nesse trabalho demonstrando os efeitos da cocaína em ratos PSP, essa droga acabou se tornando nossa principal ferramenta no estudo dos fatores envolvidos nesse fenômeno genital, bem como direcionou uma nova abordagem de estudos sobre a interação entre PSP e função sexual, resultando na realização da sequência de trabalhos descritos nessa linha de pesquisa.

Embora a cocaína tenha sido utilizada para potencializar os efeitos da PSP nos reflexos genitais, sabe-se que os efeitos agudos da cocaína consistem inicialmente em diminuição da ansiedade, euforia, hiperatividade, desinibição, aumento da auto-estima e estimulação sexual (Seibel, 2000). As consequências adversas da intoxicação aguda incluem, a princípio, uma potencialização dos componentes anteriormente referidos, podendo ser descritos como uma desinibição eufórica, impulsividade, hipersexualidade, excitação psicomotora e diminuição da necessidade de sono. Por outro lado, a necessidade diminuída de sono pode contribuir com o desenvolvimento da insônia. Por permanecerem mais tempo acordados, eventualmente os indivíduos passam a utilizar ainda mais a cocaína.

Com acesso livre, indivíduos dependentes podem fazer uso intenso e ininterrupto de cocaína por vários dias (Schuster e Fishman, 1985), tornando-se ainda mais privados de sono, com possíveis consequências graves (Koppel et al., 1996).

É documentado que a privação de sono facilita a excitabilidade do SNC (Cohen e Dement, 1965) e aumenta comportamentos instintivos (Dement, 1965), sugerindo que a PSP altere o funcionamento dos sistemas motivacionais (Canal-Frederick et al., 1977). Outros estudos, por sua vez, demonstraram que a cocaína age nas vias de recompensa (Wise, 1984; Kalivas, 2002). Essas vias são indiretamente ativadas por estímulos prazerosos, como comer, beber e atividade sexual, aventando a hipótese de que a cocaína potencializaria o efeito da PSP sobre os reflexos genitais.

Por essa razão, o segundo estudo foi realizado visando responder a questão: Qual o principal fator indutor dos reflexos genitais: a administração da cocaína ou a PSP propriamente dita (**ARTIGO 2**)? Os resultados revelaram que o grupo PSP que recebeu a administração de cocaína foi o que produziu a maior porcentagem de animais apresentando ereção e ejaculação (100% e 60%, respectivamente) e que diferiu estatisticamente dos grupos controle de gaiola que receberam salina ou cocaína. A proporção para animais do grupo PSP que receberam salina foi de 50% para ereção e 20% para ejaculação, e somente a administração de cocaína (sem PSP) induziu 10% de ereção e 10% de ejaculação. Os achados seriam provavelmente devidos a uma supersensibilidade dos receptores dopaminérgicos resultante da PSP (Tufik et al., 1978; Tufik, 1981; Nunes et al., 1994; Andersen et al., 2005b; Martins et al., 2010), potencializada pela ação da cocaína nas vias dopaminérgicas, induzindo um aumento expressivo dos reflexos genitais.

No próximo passo, verificamos a frequência de reflexos genitais frente a diferentes períodos de PSP (**ARTIGO 3**). Nosso objetivo foi examinar os reflexos

genitais após períodos de 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas de PSP e durante um período de recuperação de 4 dias em ratos que receberam cocaína. O sono rebote foi incluído para se investigar a frequência dos reflexos genitais durante esse período em que ocorre um intrigante fenômeno compensatório de sono. Após 24 horas de PSP seguidas da administração de cocaína, os animais começaram a apresentar os reflexos genitais, com uma resposta máxima na 96^a hora, enquanto a ereção e a ejaculação foram ausentes nos animais controle. Quando o período de PSP foi estendido para 5 e 6 dias, a frequência dos reflexos genitais diminuiu. Durante o período rebote houve uma redução nos reflexos genitais, contudo, eles continuaram presentes. Assim, com base nesses achados, estabelecemos e utilizamos somente a PSP de 96 horas para os demais estudos realizados no grupo para testar a função sexual de ratos.

Para se prolongar a privação de sono, geralmente há a necessidade de uma estimulação intensa e contínua, e torna-se difícil distinguir se a alteração subsequente é resultante da perda do sono ou de outros efeitos (estresse e fadiga) relacionados à indução da vigília (Tufik et al., 1995; Papale et al., 2005). Diversos estudos têm relatado patologias graves e, ainda, morte em animais privados de sono por vários dias (Rechtschaffen et al., 1989ab). Tem-se evidenciado que, enquanto os ratos controles se mantêm sadios, os ratos privados de sono morreram durante o experimento ou foram submetidos à eutanásia³ quando a morte parecia iminente (para revisão ver Rechtschaffen et al., 1989ab). Nossos dados mostram que, após períodos maiores que 96 horas de PSP, os ratos apresentavam comprometimento de sua aparência; porém, ainda eram capazes de apresentar reflexos genitais.

³Segundo recomendações da *American Association for Laboratory Animal Science*, deve-se utilizar o termo “eutanásia” e não “sacrifício”, que remete a sofrimento animal.

A investigação dos efeitos da PSP em ratos jovens de diferentes idades sobre a frequência dos reflexos genitais espontâneos induzidos por esse protocolo de privação de sono, associado ou não à cocaína (**ARTIGO 4**), foi inspirada nos levantamentos realizados pelo Centro Brasileiro de Informação sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID). O CEBRID relatou o amplo consumo de cocaína e de outras drogas em geral por crianças em todo o Brasil. Em 10 capitais do Brasil, a cocaína tem sido utilizada predominantemente por jovens do sexo masculino que tiveram uma iniciação precoce à droga. Ao redor dos 10 a 12 anos, aproximadamente 0,2% dos indivíduos já a tinham usado pelo menos uma vez, sendo 0,4% entre 13 e 15 anos de idade e 2,5% dos meninos entre 16 e os 18 anos de idade na cidade de São Paulo, uma das maiores cidades da América Latina (Galduróz et al., 1994). Em relação aos nossos resultados, os grupos controle (salina e cocaína) de qualquer idade não demonstraram ereção e ejaculação. Contudo, os animais submetidos à PSP e à injeção de salina apresentaram ereção a partir dos 60 até 90 dias de idade. Nos ratos PSP administrados com cocaína, a ereção foi observada desde o 30º dia de vida e até os 90 dias, quando ambos os reflexos genitais atingiram a resposta máxima. Esses achados nos levaram a concluir que eventos estressantes e o uso de cocaína durante as diferentes fases do desenvolvimento podem ser fatores importantes na estimulação da resposta sexual, além das inúmeras alterações que ocorrem durante a adolescência. Em vista do padrão das alterações sexuais encontradas após a PSP, já durante as fases iniciais, torna-se importante enfatizar que a PSP pode provocar danos de grande proporção durante o curso do desenvolvimento sexual.

Se por um lado a PSP associada à cocaína antecipou o aparecimento dos reflexos genitais para idades em que normalmente não ocorreriam (ex. 30 dias),

poder-se-ia supor que essa associação prolongaria a ocorrência dos reflexos genitais em ratos adultos de idades mais avançadas. Sabe-se que, com a progressão da expectativa de vida, a atividade sexual diminui (Carrier et al., 1997; Mayoux et al., 2004; Lochlainn e Kenny, 2013). Nesse contexto, 2 estudos foram conduzidos. O primeiro estudo (**ARTIGO 5**) examinou os efeitos da PSP em ratos com 22 meses de idade em comparação a ratos jovens, bem como avaliou o efeito longitudinal envolvendo ratos com diferentes idades. Mais da metade dos animais idosos (60%) expostos à PSP apresentou ereções, potencializadas pela administração de cocaína, embora a ejaculação não tenha sido observada. Por outro lado, uma injeção única de cocaína tanto no grupo controle jovem como no idoso não provocou alterações nos comportamentos genitais.

Na mesma linha de raciocínio, o segundo experimento (**ARTIGO 6**) visou comparar as alterações nos reflexos genitais em diferentes momentos da vida de ratos machos (3, 6, 10, 12, 18, 22 e 28 meses), para se determinar em qual idade a DE tem início em ratos PSP. Um número expressivo de animais PSP de todas as idades teve ereção e ejaculação após injeção aguda de cocaína, quando comparados aos ratos dos grupos PSP+salina. Com 3 meses de idade, todos os ratos que receberam cocaína demonstraram ereção e 70% ejacularam, mas houve uma redução significativa nesses comportamentos nos grupos com 12 meses ou mais. A cocaína prolongou a ocorrência de ereção até os 22 meses de idade contra os 18 meses observados nos ratos PSP+salina. Além disso, todos os grupos de PSP+cocaína com idades entre 3 e 22 meses tiveram mais ereções que seus respectivos grupos controle pareados com relação à idade. Os reflexos genitais induzidos pela PSP desapareceram por completo após os 28 meses de idade.

Além da esperada redução na porcentagem de animais idosos apresentando reflexos genitais, intrigantemente os ratos de idade intermediária (10 a 12 meses) mostraram igualmente redução no número de reflexos genitais quando comparados aos animais de 3 meses de idade. Uma tendência de prejuízo também foi verificada em animais com 6 meses de idade, porém de maneira não estatisticamente significativa, sugerindo que o mecanismo erétil permanecia intacto, embora a resposta à estimulação fosse diminuída. De acordo com a literatura, alterações significativas nos parâmetros de comportamento de cópula tornaram-se evidentes em idades mais precoces (aos 11 meses, Smith et al., 1992) ou mais tardias (18 a 19 meses, Tsai et al., 1997). Da mesma forma, os ratos com 13 meses tiveram um número inferior de comportamentos copulatórios que os animais de 3 meses (Gray et al., 1981). Esses efeitos podem ser interpretados como um reflexo da diminuição da excitação ou motivação sexual, uma vez que o processo do envelhecimento envolve uma redução natural dessa motivação.

Assim, embora haja uma redução progressiva de acordo com a idade, a PSP foi capaz de induzir reflexos genitais, e esses comportamentos foram potencializados pela cocaína, que aumentou a porcentagem de animais bem como o número de eventos genitais em todos os grupos, confirmando nossos dados prévios.

Uma outra vertente foi investigada no **ARTIGO 7**. Tem sido relatado que o comportamento sexual do macho demonstra uma ritmicidade diurna (Harlan et al., 1980), sugerindo que esse comportamento possa ser modulado pelo ritmo circadiano. Como todos os experimentos anteriores foram realizados entre as 9 e 11 horas da manhã, o propósito do estudo seguinte foi determinar se os reflexos genitais induzidos pela PSP em ratos machos apresentariam variações diurnas. Dessa forma, avaliamos a ereção e a ejaculação em 4 intervalos de tempo ao longo das 24 horas de um dia (às 9, 16, 21 e 4 horas) em ratos PSP, tratados com salina ou

cocaína. Os resultados indicaram que não houve uma evidência consistente de variação rítmica diurna na resposta erétil em ratos PSP, injetados com salina ou cocaína. Contudo, o número de animais que ejacularam e sua frequência estavam significativamente reduzidos às 4 horas no grupo PSP+cocaína. Esse horário representa um período próximo do final da fase escura do ciclo claro-escuro, que corresponde ao período de atividade para roedores, sugerindo que um outro período deva ser considerado para experimentos de resposta comportamental máxima. Ainda, o ciclo claro-escuro parece apresentar um efeito maior sobre a ejaculação do que sobre a ereção. Assim, nossa escolha de realizar os experimentos para testar reflexos genitais no início da fase clara (às 9 horas) parece ser apropriada, e a realização dos experimentos nos outros horários testados durante a fase clara não resultaria em alteração significativa dos reflexos genitais induzidos pela PSP.

Os 7 estudos conduzidos até este ponto utilizaram os ratos da linhagem *Wistar*, que seguramente representam a grande maioria dos estudos em vários campos da pesquisa biomédica. Em particular, a função sexual tem sido extensivamente descrita utilizando essa linhagem (Sachs, 1996). Entretanto, acreditamos que a avaliação das respostas eréteis em diferentes linhagens sob contextos específicos poderia ser útil na análise da fisiologia e genética da ereção e, particularmente, na compreensão dos mecanismos envolvidos no processamento da informação que origina a ereção. A descrição de estudos anteriores de que ratos albinos como os *Wistar* e *Sprague-Dawley* raramente têm ereções sem contato, enquanto os ratos pigmentados (*Long-Evans* e *Brown Norway*) apresentam uma elevada proporção de respondedores (Sachs, 1996), embasou ainda mais nossa hipótese. Dessa maneira, no **ARTIGO 8** expandimos nossos achados ao examinar outras linhagens de ratos e comparar a influência da PSP, associada ou não à

cocaína, sobre a ocorrência de reflexos genitais em 5 linhagens diferentes (*Wistar*, *Long Evans*, *Sprague-Dawley*, *Fisher 344* e *Wistar Kyoto*). Os resultados revelaram que a PSP induziu reflexos genitais espontâneos em todas as linhagens, e que a cocaína aumentou sua incidência. Todavia, após a administração de cocaína, as diferenças entre as linhagens foram consideráveis. Uma proporção expressiva de ratos *Wistar* (90%) e *Long-Evans* (70%) apresentou ereção em comparação com as outras 3 linhagens. Com relação à frequência, a *Wistar* mostrou significativamente mais ereções que todas as outras linhagens. Nitidamente, a frequência dos eventos diminuiu de $2,3 \pm 0,4$ (*Wistar*) para $0,8 \pm 0,2$ (*Long-Evans*) e $0,4 \pm 0,2$ eventos observados nos ratos *Sprague-Dawley*. Em relação à ejaculação, os resultados foram semelhantes aos verificados para a ereção, apesar do fato de que, além do *Wistar*, a frequência nos ratos *Long-Evans* foi significativamente maior que na linhagem *Wistar-Kyoto*. Em conclusão, a diversidade genética das linhagens altera a ocorrência de reflexos genitais em ratos submetidos à PSP associada à administração de cocaína. Ainda, com esse estudo confirmamos a viabilidade de continuar usando essa linhagem de ratos para essa linha de pesquisa voltada para a função sexual.

Nos próximos estudos, examinamos se o efeito potencializador da cocaína na indução de eventos genitais era mediado pela sua ação no transportador de dopamina (DAT) ou mediada pela ação no receptor dopaminérgico. Assim, testamos drogas dopaminérgicas na indução de reflexos genitais em ratos PSP. Primeiramente, a apomorfina foi administrada agudamente em ratos ao final das 96 horas de PSP (**ARTIGO 9**). A apomorfina promoveu resposta erétil aumentada nos animais PSP em comparação aos animais controles. Ao estender essa investigação para outros agonistas dopaminérgicos (bromocriptina e piribedil - **ARTIGO 10**),

observamos que o piribedil, mas não a bromocriptina, foi capaz de potencializar a ocorrência de ereção peniana em ratos PSP. Em conjunto, esses achados corroboram a literatura sobre a participação de agentes dopaminérgicos na resposta peniana, e destaca os efeitos distintos de cada droga na indução dessa resposta em animais privados de sono.

A busca pelo aumento do prazer e do desempenho sexual é uma das alegações para o uso de drogas ilícitas, predispondo a disseminação dessas substâncias psicoativas na sociedade. Estudos anteriores realizados pelo nosso grupo indicam que a PSP, seguida pela administração de agonistas dopaminérgicos, aumenta a resposta sexual em roedores.

Em jovens, o consumo de drogas ilícitas pode estar relacionado ao comportamento sexual de risco e à alteração da função erétil. Assim, esses fatores exercem um impacto negativo na sociedade, uma vez que contribuem para a disseminação de doenças sexualmente transmissíveis, como a AIDS, e predisõem o aumento do número de adolescentes grávidas (Roy et al., 2000; Haley et al., 2004; Novoa et al., 2005). Em vista disso, optamos por continuar a usar a cocaína nos demais estudos para investigar o impacto fisiológico da PSP e da restrição crônica de sono, bem como o efeito da administração de cocaína sobre a resposta sexual de ratos. Para isso, diferentes ferramentas metodológicas foram utilizadas no intuito de proporcionar um maior refinamento na elucidação desses mecanismos.

Embora progressos recentes tenham sido realizados no sentido de se compreender melhor a base neurobiológica para o abuso de cocaína, ainda há poucos estudos sobre as consequências da administração crônica sobre a função sexual em animais. Os usuários de cocaína fazem, normalmente, uso da droga por um longo período de tempo, o que pode explicar as deficiências cognitivas, as

alterações em determinadas regiões específicas do córtex, as insuficiências na função motora e a diminuição do tempo de reação em testes específicos (para revisão ver Relatório da OMS, 2004). Uma premissa importante na investigação dos efeitos comportamentais da cocaína é a de que ela pode alterar a intensidade ou magnitude de sua ação com administrações repetidas ao longo do tempo.

O abuso crônico de cocaína pode provocar complicações na função reprodutiva, inclusive impotência (Asley, 1975; Grinspoon e Bakalarm 1976; Nappo, 1996), bem como substituir a necessidade de um parceiro sexual (Grinspoon e Bakalarm, 1976). Os principais sintomas apresentados são impotência, incapacidade de ejaculação e diminuição do desejo sexual em ambos os sexos (ver Leite e Andrade, 1999). Essas manifestações podem persistir por longos períodos, mesmo após a interrupção do uso. Homens que usam cocaína de modo crônico e em altas doses podem apresentar dificuldade de ereção e ejaculação, havendo relatos de homens que experimentam períodos com perda completa de interesse sexual (Leite e Andrade, 1999). Para verificar os efeitos do tratamento crônico com cocaína em ratos machos, administramos a droga 3 vezes por semana durante 12 semanas em ratos adultos (**ARTIGO 11**). Ao contrário dos achados relatados em seres humanos, não encontramos um efeito inibitório do tratamento crônico com essa droga em machos PSP. Muitas razões podem explicar essa discrepância, dentre as quais se destacam as particularidades da própria metodologia empregada, como a via de administração e metabolização da droga, e a própria complexidade da atividade sexual entre os animais e o homem, principalmente quando componentes psicológicos e sociais estão envolvidos no processo.

2.2 Reflexos genitais em resposta à privação de sono e regulação hormonal

Se por um lado o sono é comumente tido como um estado livre de qualquer estresse (exceto pelos quadros de distúrbios de sono), que deveria servir para recuperar o organismo dos eventos ocorridos durante a vigília (Born e Fehm, 1998), a privação de sono é considerada uma condição inerente ao estresse e vice-versa, sendo que possivelmente não se pode extrair completamente os efeitos da privação de sono daqueles provocados pelo estresse em geral. A supressão de sono por períodos breves ou prolongados traz indubitavelmente algum estresse ao organismo.

Em especial nas últimas décadas, o estresse vem fazendo parte do nosso cotidiano. De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), o estresse afeta mais de 90% da população mundial, e é considerado uma epidemia global que não mostra sua verdadeira fisionomia. Na verdade, sequer é uma doença em si: é um quadro de distúrbios físicos e emocionais provocado por diferentes tipos de fatores que alteram o equilíbrio interno do organismo, incluindo alterações comportamentais, endócrinas e imunológicas.

O organismo tem um repertório considerável para lidar com o estresse agudo, caso ele não ocorra com muita frequência. No entanto, quando essa condição se torna repetitiva ou crônica, seus efeitos se multiplicam em cascata, desgastando seriamente o organismo em questão. Em outras palavras, muitos dos efeitos prejudiciais da exposição prolongada ao estresse são provocados por nossas próprias reações, ou seja, a secreção de hormônios associados ao estresse. Concentrações aumentadas dos hormônios do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), particularmente da corticosterona (ratos) ou cortisol (humanos), são utilizadas como um fator relacionado ao nível de estresse. Qualquer estímulo que induza esse aumento da atividade do eixo HPA é identificado como um agente estressor (DeVries, 2002). Seguramente, o sistema

HPA é o mais importante mediador da resposta neuro-endócrina ao estresse (Selye, 1956). Assim sendo, diversos estudos têm documentado que a ativação do eixo HPA pode mostrar consequências adaptativas que podem ou não estar ligadas às respostas aos agentes estressores (para revisão ver DeVries, 2002). Por exemplo, os fatores sociais e contextuais podem alterar a função do eixo HPA para influenciar a atração pelo parceiro ou a formação de preferência em algumas espécies (DeVries et al., 1996).

As vias subjacentes da interação da privação de sono e as alterações comportamentais envolvem provavelmente múltiplos sistemas fisiológicos, como o endócrino. De fato, evidências recentes indicam que os distúrbios de sono interferem no sistema endócrino (Leproult e Van Cauter, 2010; Terán-Perez et al., 2012). Ao nível celular e tecidual, os hormônios são os agentes-chave. A homeostase do organismo e seus sistemas estão interrelacionados: quando um ou mais desses sistemas hormonais apresenta uma disfunção, o organismo inteiro é afetado.

Em todos os nossos estudos, elegemos estudar o efeito dos reflexos genitais e/ou das alterações hormonais sob a PSP por meio do método da plataforma múltipla. O principal fundamento para nossa escolha foi o de que nesse método é possível se reduzir o estresse da imobilização e o isolamento social, ambos presentes no método da plataforma única. Com isso, tem-se os efeitos promovidos pela PSP numa condição mais favorável ao bem-estar animal.

Como a resposta sexual está sob controle hormonal, especialmente no que se refere à testosterona nos machos, no **ARTIGO 12** investigamos os efeitos da PSP nas concentrações de testosterona (principal hormônio masculino) e de progesterona, uma vez que há evidências de que a progesterona pode facilitar o comportamento sexual masculino em répteis (Lindzey e Crews, 1986; Crews et al., 1996) e em ratos (Witt et al., 1994). Contudo, pouca atenção vinha sendo direcionada para um possível papel da

progesterona no comportamento sexual masculino. Uma possível explicação para o número limitado de estudos a respeito desse tema reside no fato da progesterona ter uma participação central na reprodução feminina. Além disso, a progesterona tradicionalmente é tida por apresentar uma função limitada ou mesmo inexistente sobre o controle do comportamento sexual masculino (Phelps et al., 1998). Por outro lado, a testosterona é conhecida por exercer os efeitos motivacionais necessários para a demonstração do comportamento sexual masculino (Roselli e Chambers, 1999). Nossos resultados demonstram que as concentrações desse hormônio estavam significativamente reduzidas após 96 horas de PSP, em oposição ao aumento expressivo dos reflexos genitais evidenciados nos ratos privados de sono. A progesterona, por sua vez, estava significativamente aumentada nos ratos PSP em relação ao grupo controle. Essa foi a primeira vez que alguma pesquisa revelou os níveis desses 2 hormônios em ratos privados de sono associados a reflexos genitais. Nesse sentido, uma nova evidência científica foi detectada para as bases hormonais envolvidas na resposta sexual em ratos machos.

Assim, o cenário geral que se tem até esse momento é de que a PSP altera hormônios sexuais de forma a reduzir a testosterona e aumentar a progesterona. No entanto, a ausência de trabalhos na literatura sobre esse tema nos fez examinar a influência da PSP, bem como o de outros agentes estressores, nos níveis de hormônios esteroides em ratos machos da linhagem *Wistar*, uma vez que os efeitos da privação de sono também são resultantes do estresse associado à perda de sono. Os resultados indicaram que a PSP, o choque elétrico nas patas e o frio resultaram na diminuição dos níveis de testosterona quando comparados aos grupos de natação forçada e controle. Contudo, os níveis de progesterona estavam

elevados nos grupos de choque e PSP em relação aos grupos controle, natação, frio e imobilização (**ARTIGO 13**).

Analizamos também a estrona e o estradiol, uma vez que esses hormônios estão relacionados à testosterona. Ambos os estrogênios encontraram-se reduzidos nos grupos PSP, choque e imobilização quando comparados aos grupos controle, natação forçada e frio. Além disso, um aumento significativo nos níveis de corticosterona foi verificado somente nos grupos PSP e choque elétrico. Assim, esses dados sugerem que as diferentes modalidades de estresse resultam em distintas respostas hormonais, com a PSP e o choque elétrico sendo os que mais apresentaram semelhanças entre si. Embora essas duas modalidades tenham sido as únicas capazes de induzir alguma resposta genital (10% dos animais que receberam choque nas patas apresentaram ereção - **ARTIGO 1**), há uma diferença robusta entre esses grupos, sugerindo que a alteração hormonal não é o único fator responsável por esses comportamentos.

A avaliação da resposta hormonal esteve presente desde o começo dos nossos estudos. Assim, a discussão a seguir terá foco na avaliação hormonal, usando como base alguns artigos já citados. De fato, nossos estudos seguintes tinham o objetivo de gerar um maior número de evidências científicas para responder as dúvidas inerentes a esse debate sobre as consequências hormonais da PSP em ratos que apresentam reflexos genitais. No **ARTIGO 4** encontramos que as concentrações da testosterona estavam mais uma vez significativamente reduzidas após o período de PSP em todas as idades dos ratos jovens analisados, mesmo que os níveis de testosterona tenham aumentado com a idade. A porcentagem de redução da testosterona nos ratos PSP, em relação aos controle, foi maior no grupo com 90 dias de idade (90,9%) em relação às demais idades. Com esse resultado e o

fato da maturidade sexual ter sido atingida nessa idade, atestamos uma nova razão para utilizarmos os ratos com 90 dias de idade durante todo o transcorrer desta série de estudos experimentais.

Para verificar a influência da variação diurna nos reflexos genitais, possivelmente governada por uma alteração dos níveis hormonais circulantes, examinamos os reflexos genitais, bem como as concentrações hormonais, em um período de 24 horas em 4 intervalos (**ARTIGO 7**). Observamos uma marcante variação diurna nos níveis de testosterona e progesterona nos ratos controle, enquanto somente as respostas ejaculatórias do grupo PSP+cocaína pareceram ser influenciadas pela hora do dia.

Em vista dos efeitos da PSP nas concentrações hormonais em ratos *Wistar* jovens, adultos e idosos em um período de 24 horas, nosso objetivo seguinte foi determinar se a mesma resposta ocorreria em outras linhagens (**ARTIGO 8**). Assim, 5 diferentes linhagens foram comparadas em relação aos reflexos genitais e níveis hormonais após período de PSP. A análise mostrou que os ratos das linhagens *Wistar*, *Long-Evans* e *F344* quando PSP apresentaram concentração de testosterona significativamente menor em relação aos seus respectivos grupos controle. Nos ratos controle das linhagens *Sprague-Dawley* e *Wistar-Kyoto*, a testosterona estava significativamente menor do que nos controles *Wistar* e *Long-Evans*. Por outro lado, as concentrações de progesterona estavam significativamente mais elevadas nos ratos PSP das linhagens *Wistar* e *Long-Evans* em relação aos seus respectivos grupos controle. Nas outras linhagens, esse hormônio foi significativamente reduzido quando comparado aos ratos PSP *Wistar* e *Long-Evans*. De maneira geral, esse estudo demonstrou que os reflexos genitais e os hormônios são diferentemente influenciados pela PSP em cada linhagem.

Se 96 horas de PSP foram capazes de alterar os níveis da testosterona e progesterona, o que aconteceria se aumentássemos o período de privação de sono? Assim, expandimos a análise hormonal para períodos repetidos de PSP, e os resultados revelaram que as concentrações de testosterona estavam significativamente reduzidas quando comparadas às do grupo controle. Todavia, após 3 períodos de 96 horas de PSP com intervalos de recuperação, os níveis encontrados estavam aumentados em relação aos dos animais submetidos a um único período de 96 horas de PSP. As concentrações de progesterona também foram significativamente alteradas após a PSP crônica. Após 96 horas de PSP, os níveis aumentados de progesterona se mantiveram com a PSP crônica. Com base na redução da concentração de testosterona e da concentração elevada de progesterona após um período longo de privação de sono, além de uma diminuição significativa dos reflexos genitais, poder-se-ia questionar qual seria a participação dessas alterações hormonais nos reflexos genitais. Embora todas as possibilidades não pudessem ser respondidas com um único estudo, acreditamos que há vários mecanismos interligados de forma complexa a produzir alterações na resposta sexual.

Se a PSP acarreta uma redução da testosterona e ainda assim os animais apresentam reflexos genitais, o nosso próximo passo foi induzir um quadro de baixos níveis de testosterona para verificar se após a PSP e a administração de cocaína esses animais apresentariam ereção. O caminho escolhido para se obter essa condição foi a castração.

O nosso objetivo foi verificar se os efeitos da PSP nos níveis hormonais tinham repercussão direta no mecanismo erétil após a administração da cocaína, o que sugeriria uma facilitação da progesterona sobre a ereção e que a testosterona poderia inibi-la. Em ratos castrados, pode-se prever que o tratamento com

progesterona aumentaria a ereção, e que a diminuição das concentrações de testosterona pela castração poderia aumentar a ereção (efeito observado com a PSP) após a administração de cocaína. Além disso, os efeitos da testosterona sobre o comportamento sexual poderiam ser mediados pela aromatização da testosterona em estradiol, levando-se à hipótese de que o estradiol também pudesse influenciar a ereção. De fato, os esteroides sexuais são produzidos a partir do colesterol, assim como acontece com os esteroides adrenais.

Durante os 4 dias de PSP, grupos distintos de ratos castrados receberam doses diárias de testosterona, progesterona ou estradiol. Curiosamente, somente o grupo tratado com progesterona e desafiado com cocaína ao final do período de PSP apresentou ereções (**ARTIGO 12**). Corroborando nossos dados, há relatos de que a suplementação de progesterona em ratos machos castrados é capaz de induzir comportamento sexual, mesmo na ausência de outros esteroides gonadais (Witt et al., 1994, 1995). Esses autores demonstraram que a testosterona isoladamente não restaurava as respostas sexuais típicas nos machos, a menos que as concentrações de progesterona estivessem elevadas. A análise hormonal dos animais castrados realizada em nosso estudo revelou que as concentrações de progesterona eram significativamente elevadas nos ratos castrados em relação aos ratos não-castrados; porém, esses níveis poderiam não ter chegado ao nível mínimo necessário para iniciar ou facilitar a ereção. A PSP reduziu os níveis de progesterona nos ratos castrados, e nenhuma ereção foi observada nesse grupo. A administração de 100 mg/dia de progesterona durante os 4 dias de PSP nos ratos castrados manteve a progesterona em níveis constantes e possivelmente contribuiu para a ocorrência de ereção.

Com o aumento da concentração de progesterona encontrada nos estudos anteriores e sua participação na indução da ereção em ratos castrados, nós aventamos a hipótese de que a progesterona seria um fator hormonal de suma importância na indução dos reflexos genitais em machos PSP (ver revisão de Andersen e Tufik, 2006). Na tentativa de fornecer mais evidências a essa hipótese, utilizamos diferentes doses de mifepristona, um antagonista do receptor de progesterona, em ratos PSP ao final de um período de 4 dias de privação, uma hora antes da injeção de cocaína (**ARTIGO 14**). Uma única injeção de mifepristona em doses variando de 5 a 20 mg/kg antes da administração de cocaína reduziu significativamente a porcentagem de ratos com ereção, bem como reduziu sua frequência em relação aos ratos do grupo controle. Em relação às concentrações hormonais, a mifepristona reduziu as concentrações de progesterona em todas as doses utilizadas, quando comparado ao grupo que recebeu apenas veículo. Na dose de 20 mg/kg, a mesma droga elevou as concentrações de testosterona.

Considerando que a ereção é um fenômeno característico do sono paradoxal/REM, a modulação exercida pela progesterona no comportamento sexual/reflexos genitais poderia ser atribuída aos seus efeitos sobre o padrão de sono paradoxal. Para testar essa questão, registramos o sono de ratos tratados com mifepristona. Nossos dados mostram que a mifepristona diminuiu a duração dos episódios de sono paradoxal. Nesse sentido, esse resultado sugere que a progesterona deva estar envolvida na regulação do sono paradoxal, parecendo exercer um papel funcional na regulação do comportamento sexual do macho. Tomados em conjunto, esses estudos contribuem com os dados da literatura no sentido de demonstrar que a progesterona influencia a resposta sexual masculina. Embora o papel da testosterona na resposta sexual do macho não possa nem deva ser

completamente excluído, havia a necessidade de estudos adicionais no sentido de se esclarecer a interação desses hormônios com os mecanismos sexuais, especialmente o da progesterona, que por um longo tempo foi conhecida somente como um hormônio estritamente feminino, e sua ação modulada pelo tempo de sono.

Como visto anteriormente, a duração do período o longo do qual o animal permanece privado de sono é relevante para seu desempenho genital. Após 24 horas de PSP seguidas pela administração de cocaína, os animais começam a demonstrar ereção e ejaculação, com uma resposta máxima na 96^a hora de PSP. Os reflexos genitais também estão presentes nos períodos de recuperação; porém, diminuem gradualmente durante esse período. Para investigar se os hormônios apresentariam uma relação temporal com os resultados observados nos reflexos genitais, o objetivo do **ARTIGO 15** foi investigar a partir de qual período a PSP altera os hormônios sexuais e os relacionados ao estresse, juntamente com as concentrações de catecolaminas plasmáticas durante os 4 dias analisados. Visamos ainda verificar o perfil hormonal durante o período de sono rebote por mais 4 dias.

Os resultados mostraram que a testosterona e a estrona diminuíram, enquanto a progesterona, a prolactina, a corticosterona, o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), a dopamina e a noradrenalina aumentaram durante a PSP. Embora os mecanismos para as alterações das bases neuroendócrinas moduladas pelo sono sejam ainda desconhecidos, uma possível explicação para o aumento de progesterona deve-se ao aumento da secreção de colesterol (Andersen et al., 2006), que, por sua vez, produz esteroides sexuais. No entanto, esse não deve ser o único caminho periférico por meio da adrenal responsável pelo aumento da progesterona em ratos machos privados de sono. Durante o período rebote, as concentrações de progesterona, prolactina e corticosterona retornaram aos níveis basais,

efeito não observado com a testosterona, a estrona, a noradrenalina e a dopamina. Além disso, as concentrações de testosterona estavam significativamente diminuídas em relação às concentrações basais, permanecendo reduzidas até o 4º dia de rebote. Assim, a PSP mostrou efeitos diferenciais de longa duração nos níveis desses hormônios e neurotransmissores, sugerindo que cada hormônio apresenta seu próprio padrão de respostas frente à PSP, bem como períodos variáveis para sua recuperação. Com base nos achados previamente mencionados, é razoável propor que o sono seja considerado essencial para a saúde e para a vida, sendo sua privação um fator biológico estressante de suma relevância. Seguramente, nota-se que, embora alguns hormônios recuperem suas concentrações basais de uma maneira rápida, outros permanecem alterados, indicando que a normalização do sono (i.e. recuperação) talvez não seja o único fator contribuinte para a recuperação de sua homeostase.

Nos últimos anos, o óxido nítrico (NO) tem recebido uma atenção marcante na literatura. Tem-se sugerido que ele seja o mediador primário da ereção peniana (Ignarro et al., 1990; Azadzo et al., 1992). Com base nesses achados, tem sido aceito que o NO se origina de fibras nervosas noradrenérgicas não-colinérgicas (NANC) do pênis, sendo o principal vasodilatador durante a resposta peniana (Reilly et al., 1997). Assim, examinamos se o NO, além de estar envolvido na função erétil, também exerceria uma influência nos reflexos genitais em ratos PSP, desafiados ou não com a cocaína (**ARTIGO 16**). Os resultados demonstraram que a administração sistêmica do inibidor da síntese de NO, o N^G-nitro-L-arginina metil-éster (L-NAME), não influenciou os reflexos genitais induzidos pela PSP. Todavia, quando a PSP foi associada à cocaína, a frequência da ereção apresentou-se reduzida após as 3 doses testadas. Em contraste, a L-NAME alterou a ereção observada em ratos nos quais foi injetada salina, reduzindo o número de animais que apresentaram a ereção

e a frequência desse reflexo genital. Além disso, em ratos PSP desafiados com cocaína, a L- NAME diminuiu os eventos eréteis. Assim, a redução da frequência de ereção foi comum a ambas as drogas, independentemente de sua ação. Esses resultados sugerem que o NO participa de forma importante na inibição da ereção induzida por PSP e injeção de cocaína.

Como a ereção é basicamente um fenômeno dependente do fluxo sanguíneo, sempre se tentou, quando o aporte sanguíneo era insuficiente, melhorá-lo por meio do uso de substâncias por via oral capazes de facilitar o efluxo, relaxando a musculatura e os vasos arteriais. Assim, em 1998, surge no mercado o sildenafil, o famoso Viagra®, um medicamento revolucionário que facilitava muito o processo de ereção.

O sildenafil é um inibidor competitivo da enzima fosfodiesterase da classe de tipo 5 (PDE-5). A PDE-5 é encontrada nos corpos cavernosos, plaquetas e músculos esquelético, vascular e visceral. Quando ocorre a estimulação dos nervos noradrenérgicos e não-colinérgicos do plexo parassimpático pélvico por meio de estímulo sexual ou físico ou de fantasias eróticas, o NO é liberado em todas as junções neuromusculares das artérias e músculos cavernosos do pênis. O NO causa, então, um aumento de um segundo mensageiro denominado monofosfato de guanosina cíclico (GMPc), que constitui uma importante molécula no processo de relaxamento muscular, sendo capaz de ativar uma cascata de reações que resultam no aumento do fluxo sanguíneo peniano, relaxamento do músculo liso cavernoso e finalmente na intumescência e rigidez do pênis. Dentro dessa cascata, a PDE-5 é a enzima responsável pela quebra de GMPc em GMP, o que, por sua vez, resulta em uma contração das artérias e do músculo liso peniano, causando a

detumescência (McCullough et al., 2002). Consequentemente, o sildenafil é eficaz no tratamento de DE de diversas etiologias.

Nesse sentido, testamos os efeitos do sildenafil na promoção de reflexos genitais em ratos PSP (**ARTIGO 17**). Considerando-se que a PSP reduziu os níveis de testosterona e que esse hormônio tem sido descrito por exercer efeitos motivacionais no comportamento sexual masculino (Roselli e Chambers, 1999), investigamos também os efeitos do sildenafil nos níveis de testosterona. O sildenafil foi administrado em ratos ao final de um período de 4 dias de PSP ou período equivalente em ratos controle. Em um segundo experimento, antagonistas de receptores D1 (SCH 23390) e D2 (haloperidol e sulpirida) foram administrados anteriormente ao sildenafil a fim de investigar a participação do NO no sistema dopaminérgico. Nos ratos PSP, o sildenafil não potencializou os reflexos genitais. Ainda, a inibição dos receptores D1 não modificou a frequência dos reflexos genitais. Porém, os antagonistas D2 reduziram significativamente a ereção e a ejaculação. Em relação aos níveis hormonais, a administração de sildenafil preveniu a redução da testosterona nos ratos PSP. Nossos resultados indicam que o sildenafil não potencializou os reflexos genitais de ratos PSP, mas preveniu a diminuição dos níveis de testosterona observada após a PSP. É sabido que é necessário haver algum grau de desejo para que as drogas orais funcionem plenamente. Assim, a ausência do estímulo desencadeado pela fêmea receptiva pode ser um fator contribuinte para os resultados encontrados. Corroborando essa hipótese, Ferrari e colaboradores (2002) demonstraram que, em ratos sexualmente experientes, o sildenafil aumentou significativamente a ocorrência de ereção e de montas, além de limpeza genital.

2.3 Efeitos da privação de sono paradoxal sobre o comportamento sexual masculino e regulação hormonal

A ereção e ejaculação representam 2 eventos fundamentais para a resposta motivacional do comportamento sexual. Porém, a avaliação do repertório completo do comportamento sexual envolve tanto comportamentos motivacionais (tempo para iniciar o comportamento de cópula com a fêmea), como respostas motoras (desempenho), representadas pelos comportamentos de monta, intromissão e ejaculação. Assim, a ereção e a ejaculação são apenas 2 componentes de uma complexa cascata de eventos periférico-neurais, sendo que grande parte dessa cascata ocorre no SNC, o que faz com que a experiência sexual exerça marcante influência na resposta sexual.

O treino para adquirir experiência sexual é um componente importante para um bom desempenho sexual em ratos machos. Nesse sentido, validamos um protocolo de 9 dias de exposição a fêmeas receptivas para promover um treino do macho (**ARTIGO 18**), no qual os ratos foram distribuídos em 2 grupos de acordo com a frequência ejaculatória: excelentes e bons (Grupo 1) e baixo e nenhum (Grupo 2) desempenho sexual. O protocolo de treino estabelecido foi eficiente em reduzir a latência para a primeira ejaculação no Grupo 1, indicando a importância de submeter os animais a um tempo determinado de treino para que haja uma resposta sexual satisfatória. Enquanto 42,5% dos ratos apresentaram desempenho sexual excelente durante todo o período de observação, 17,5% obtiveram um desempenho adequado, reforçando a hipótese que a experiência sexual melhora o desempenho sexual. No entanto, 32,5% dos animais não apresentaram qualquer resposta sexual. Curiosamente, os animais que apresentaram melhor desempenho sexual também tiveram níveis mais altos de progesterona. Por sua vez, os animais que apresentam

baixo/nenhum desempenho (Grupo 2) tiveram níveis significativamente reduzidos de testosterona em relação aos ratos do Grupo 1. Esses dados mostram de forma inédita e pioneira a participação da progesterona no desempenho sexual e na manutenção dessa resposta ao longo do tempo no grupo com melhor atividade copulatória.

A partir desse ponto, adotamos a utilização desse protocolo de treino do comportamento sexual nos demais estudos, uma vez que ele permitiu a padronização da atividade copulatória, evitando, assim, uma possível interferência sobre a análise dos dados. Nota-se que alguns animais não apresentam nenhum comportamento sexual até o 3º e 4º dias de treino, melhorando, porém, seu desempenho nos dias subsequentes. Esses resultados corroboram estudos anteriores que demonstram que a experiência sexual pode promover alterações na atividade sexual masculina (Portillo e Paredes, 2004; Ang e Ngai 2001). No entanto, não há um consenso na literatura sobre esse tema. Em 2004, Portillo e Paredes demonstraram que 2 a 3% dos animais não apresentam qualquer comportamento copulatório. Ao analisar o comportamento sexual, Ang e Ngai (2001) observaram que aproximadamente 100 ratos, de uma amostra ainda maior que foram incluídos no estudo, não demonstraram qualquer comportamento sexual. Assim, parece haver uma grande variação na proporção de ratos que apresentam comportamento copulatório satisfatório.

Em comparação aos animais experientes, os ratos *naïve* quando copulam tendem a ter um aumento da latência para montas, intromissões e ejaculações. Poucos estudos têm comparado diretamente ratos copuladores e não-copuladores. Sabe-se que alguns animais *naïve* de outras espécies (hamster, gerbil, cobaia e carneiro) podem não copular, ou apresentam montas inconstantes durante os testes.

A maioria desses animais nunca desenvolve comportamento copulatório mínimo necessário, fazendo com que muitas vezes sejam descartados (Harding e Feder, 1976; Pfaus e Wilkins, 1995; Alexander et al., 1999; Sura et al., 2001).

Diversos estudos têm demonstrado que a discrepância nos resultados pode ser devida a vários fatores, como, por exemplo, o período do protocolo de treinamento para o comportamento sexual (Pfaus e Wilkins, 1995; Sura et al., 2001; Wu e Gore, 2009). Dessa forma, a diferença entre o nosso estudo e outros achados da literatura pode ser atribuído à espécie (ratos x camundongos), à linhagem (*Wistar Hannover* x *Sprague-Dawley*) ou ao tempo de treino (tempo de exposição às fêmeas). Esses achados sugerem que a experiência sexual pode ser modificada de acordo com a duração da estimulação sexual. Uma vez que 32,5% dos ratos avaliados não apresentaram qualquer atividade sexual durante as sessões de observação, pode-se afirmar que o protocolo de 9 dias, utilizado neste projeto, foi o tempo suficiente para escolher os animais que apresentam bom desempenho e identificar aqueles que não apresentam nenhum comportamento. Há especulação de que alguns ratos necessitem de períodos mais longos para se adaptar ao ambiente de teste e exibir alguma resposta sexual adequada frente às fêmeas receptivas (Kohlert e Bloch, 1996).

A testosterona tem sido apontada como o principal hormônio responsável pelo desempenho sexual masculino (motivação e atração) (para revisão ver Hull e Dominguez, 2007; Sakuma, 2008; Andersen e Tufik, 2008, 2011; Wu e Gore, 2009). Em 2008, Nyby afirmou que as elevações nos níveis de testosterona ocorrem normalmente durante o comportamento copulatório, e que esse hormônio pode ativar as respostas motivacionais e fisiológicas que facilitam a reprodução em ratos. Tem sido relatado que os níveis de testosterona podem ser alterados por mera exposição a visão, odor, ou som de uma fêmea receptiva (Harding e Feder, 1976).

Ainda, os níveis plasmáticos de testosterona aumentam significativamente em ratos quando expostos a uma fêmea receptiva (Bonilla-Jaime et al., 2006). A experiência sexual também aumenta as concentrações de testosterona no hipocampo de ratos quando comparados a ratos sexualmente imaturos (Edinger e Frye, 2007). Em nosso estudo, a testosterona foi significativamente diminuída nos ratos de baixo desempenho (Grupo 2) em relação ao grupo de ótimo desempenho (Grupo 1), sugerindo que os níveis desse hormônio estão associados à resposta sexual. Além disso, os animais do Grupo 1 não apresentaram níveis aumentados de testosterona após 9 dias de treino quando comparados aos ratos que não foram submetidos ao treino (*naïve*). A diminuição da concentração de testosterona observada no Grupo 2 vai ao encontro dos estudos anteriores que indicam um papel importante da testosterona no comportamento sexual de ratos, apoiando, assim, a ação dos andrógenos na resposta sexual masculina. Em um experimento semelhante ao nosso, os níveis de testosterona não diferiram entre ratos de baixa ou adequada atividade sexual (Harding e Feder, 1976). Por outro lado, Wu e Gore (2009) observaram que ratos experientes apresentaram as concentrações de testosterona mais altas do que ratos machos *naïve*. Em contraste, Portillo e colaboradores (2006) mostraram que ratos com baixa atividade sexual não apresentaram diminuição das concentrações de testosterona em comparação aos ratos de desempenho sexual adequado. Conjuntamente, a complexa resposta hormonal associada à atividade copulatória não está totalmente elucidada, e, por esse motivo, justifica-se ainda mais a necessidade de estudos que possam esclarecer as influências que a experiência sexual exerce sobre as concentrações de testosterona, bem como a ação de outros hormônios que possam estar relacionados a esse fenômeno. Portillo e colaboradores (2007) confirmaram a hipótese de que a concentração da atividade da

aromatase no cérebro é menor em não-copuladores do que em ratos com alto índice copulatório. Desse modo, podemos inferir que os ratos do Grupo 2 que tiveram uma redução nos níveis de testosterona poderiam apresentar menores níveis de estradiol. Essas descobertas lançam uma possível explicação para a compreensão do perfil hormonal relacionado ao baixo desempenho sexual em ratos.

A progesterona é um hormônio esteroide que regula grande parte dos processos envolvidos no desenvolvimento e na manutenção da função reprodutiva (Clark e Peck, 1979; Oettel e Mukhopadhyay, 2004; Andersen e Tufik, 2006). É bem documentado que a progesterona exerce um papel central na reprodução feminina, e uma grande quantidade de pesquisas tem se concentrado na elucidação dos mecanismos neurais e endócrinos da progesterona em fêmeas. Entretanto, pouca atenção tem sido dirigida para o seu possível papel na função do comportamento sexual masculino. Em seres humanos, um estudo inicial feito por Heller e colaboradores (1958) mostrou uma diminuição da libido sexual em 4 homens que receberam tratamento com progesterona. Na década de 1970, o tratamento com progesterona foi usado para reduzir o desejo sexual exacerbado (Money, 1970) e aplicado no tratamento de alguns comportamentos sexuais anormais (Cooper, 1986). Em contraste, outro estudo demonstrou que a suplementação de progesterona em ratos machos castrados foi capaz de promover diversos eventos sexuais (montas), mesmo na ausência de outros esteroides relacionados a esse comportamento (Witt et al., 1995).

De maneira interessante, observou-se no nosso estudo que o grupo de animais com melhor atividade sexual (Grupo 1) também apresentou um aumento nos níveis de progesterona em comparação aos ratos *naïve* e aos ratos do Grupo 2 (baixo/nenhum desempenho sexual). De fato, a progesterona também esteve 3,8 vezes maior no Grupo 1 em relação aos animais controle *naïve*. Esses resultados sugerem que a

resposta sexual excelente do Grupo 1 pode estar relacionada ao aumento da liberação de progesterona. Dessa forma, nossos dados fornecem mais evidências da participação desse hormônio no comportamento sexual masculino. Além disso, esses achados sugerem que o bom desempenho sexual é acompanhado por altos níveis de progesterona, que por sua vez, pode ser considerada um fator limitante para a promoção do desempenho sexual em ratos machos. Nesse sentido, especula-se que uma concentração ideal de progesterona deva ser necessária para que os animais apresentem atividade copulatória satisfatória.

Em resumo, esse estudo teve por objetivo investigar como o treino para adquirir experiência sexual poderia influenciar o desempenho sexual, e se hormônios como a testosterona e a progesterona poderiam modular esse comportamento. Em relação ao treino, nosso estudo demonstra que para o rato macho ter um bom desempenho sexual é necessário um tempo mínimo de exposição a fêmeas receptivas, e que alguns ratos ainda não conseguem alcançar o desempenho adequado mesmo após 9 dias. Além disso, observamos que a testosterona, considerada um fator importante para a função sexual masculina, estava reduzida em ratos que apresentavam baixa/nenhuma atividade sexual, enquanto a progesterona estava significativamente elevada nos animais com excelente desempenho sexual. Esses resultados sugerem que a progesterona pode ter consequências funcionalmente relevantes para a resposta sexual masculina (ereção e comportamento copulatório), e que esse hormônio desempenha um papel mais importante no controle do comportamento sexual masculino do que tem sido comumente documentado.

A diminuição do tempo de sono presente na sociedade atual pode levar ao comprometimento de diversas funções do organismo, em especial o funcionamento inadequado do sistema endócrino, o que pode acarretar prejuízos no

comportamento sexual e, conseqüentemente, na função reprodutiva. Nesse sentido, o objetivo do próximo estudo (**ARTIGO 19**) foi avaliar as conseqüências da falta de sono nos parâmetros reprodutivos. Nossos resultados indicam que a PSP por 96 horas foi capaz de diminuir significativamente o desempenho sexual em ratos sexualmente ativos. Por sua vez, os animais submetidos a RS crônica por 21 dias não apresentaram nenhuma diferença significativa no padrão de comportamento sexual quando comparado aos animais CONTROLE. Quanto às alterações hormonais, os ratos submetidos à PSP apresentaram uma diminuição das concentrações de testosterona quando comparados ao grupo controle. Nenhuma diferença significativa foi observada entre os grupos nas concentrações de progesterona. Em relação à análise do sêmen, ambos os grupos PSP e RS apresentaram uma menor viabilidade espermática em relação ao grupo controle (50% e 15%, respectivamente). Porém, a diminuição dos espermatozoides vivos foi mais acentuada no grupo PSP.

Esse estudo demonstrou que a falta de sono após um período de 96 horas de PSP prejudicou o comportamento sexual de ratos machos que previamente apresentavam excelente resposta sexual. A piora do desempenho sexual se deu pelo aumento da latência para iniciar o comportamento de intromissão e redução do número total de intromissões e ejaculações. No entanto, quando o período de diminuição do tempo de sono foi expandido na tentativa de mimetizar a situação de débito crônico de sono, o grupo submetido à RS não apresentou nenhuma alteração significativa tanto na motivação quanto no desempenho sexual. Essa resposta do grupo RS pode ter sido influenciada pela ação dos hormônios sexuais, já que esses animais não tiveram uma redução das concentrações de testosterona após 21 dias

de RS e, ainda, mantiveram níveis de progesterona semelhante aos dos grupos CONTROLE e PSP.

Até o presente momento, nenhum estudo tinha investigado os efeitos da privação de sono na viabilidade espermática. Nossos achados indicam que a diminuição do tempo de sono promoveu um comprometimento na função reprodutiva, representado pela diminuição da viabilidade espermática (**ARTIGO 19**). Os animais que foram submetidos à PSP apresentaram uma redução de 50% de espermatozoides vivos em relação ao grupo CONTROLE. O grupo RS também apresentou uma viabilidade espermática 15% menor do que os animais do grupo CONTROLE. A princípio nossa hipótese era a de que a testosterona, por estar diminuída após a PSP (nossos achados prévios) e ser um dos principais responsáveis pela manutenção do ciclo espermático (Sofikitis et al., 2008; Walker, 2009), poderia ser o fator principal desse prejuízo. No entanto, como os animais do grupo RS não apresentaram diminuição desse hormônio, não é possível inferir que a alteração da viabilidade espermática tenha sido diretamente decorrente do declínio na concentração de testosterona.

Hormônios como o LH e FSH também podem ser influenciados pela falta de sono ou condições estressantes. Em humanos, Nindl e colaboradores (2006) relataram que após um período de estresse, entre eles RS (treinamento militar), houve um aumento da concentração de LH, enquanto o FSH manteve-se inalterado, após uma privação parcial de sono (Baumgartner et al., 1993). Sabe-se que hormônios gonadotróficos como o FSH são responsáveis pelo início do processo da espermatogênese, enquanto o LH é o estímulo primordial para a secreção de testosterona, que, por sua vez, também atua nesse processo. Considerando que a testosterona potencializa a ação do FSH (McLachlan et al., 1995; Singh e Handelsman, 1996; Sousa et al., 2002), e que na

condição de PSP a testosterona está significativamente diminuída, podemos sugerir que a ação do FSH também poderia estar reduzida, e, por conta disso, haveria um comprometimento da viabilidade espermática. Entretanto, nossos resultados demonstram que tanto o FSH quanto o LH não estão significativamente alterados após PSP e RS, sugerindo que os prejuízos na viabilidade espermática não são diretamente relacionados à variação desses hormônios nesse modelo de PSP.

Considerando que o ciclo espermático do rato dura em torno de 56 dias, pode-se afirmar que o espermatozoide já estava formado nesses animais antes de serem submetidos aos protocolos de PSP e RS. Dessa forma, os danos ocorridos podem ser resultantes do ambiente no qual o espermatozoide foi armazenado ou passou antes de ser expelido na ejaculação. Provavelmente uma alteração morfológica nessas estruturas (próstata, epidídimo e testículos) poderia comprometer o espermatozoide após sua formação. Outra questão que pode ser levantada é em relação com a temperatura corporal dos animais. Para conservação dos espermatozoides, é necessária uma temperatura ideal, uma vez que eles são extremamente vulneráveis a variações de temperatura. Sabe-se que animais submetidos à PSP perdem a capacidade de manter o controle da temperatura corporal, apresentando hipertermia (Seabra e Tufik, 1993; Hoshino, 1996). Nesse sentido, podemos sugerir que uma alteração na função fisiológica, como a temperatura, possa ser responsável pelo dano na viabilidade espermática. No entanto, até este momento não há estudos sobre os efeitos da PSP especificamente sobre esses parâmetros relacionados à fertilidade masculina.

Diante dos achados no perfil hormonal em ratos PSP, especialmente mostrando alterações na liberação dos andrógenos, investigamos os efeitos da PSP e da RS na morfologia da próstata em ratos (**ARTIGO 20**). Os principais achados

foram que o tecido da próstata respondeu a 96 horas de PSP com a presença de corpos apoptóticos e diminuição da altura do epitélio seminífero, o que indica atrofia da glândula prostática. A RS promoveu acúmulo de células de gordura no estroma da glândula prostática. Esses resultados indicam que a PSP, além de modificações na função sexual, pode ser responsável por alterações morfológicas profundas no tecido prostático ventral.

Uma vez demonstrada a função da PSP sobre a resposta sexual em machos adultos, nos questionamos se os filhos de progenitores privados de sono teriam consequências semelhantes na função reprodutiva. No **ARTIGO 21** demonstramos que a falta de sono durante a gravidez pode prejudicar não só o comportamento sexual dos descendentes na vida adulta, mas também alguns parâmetros físicos e sensório-motores. Nesse último, critérios de avaliação do desenvolvimento físico do filhote infante, como o tempo para abertura dos olhos e o tempo para ocorrência do desdobramento das orelhas, foram significativamente aumentados nos filhotes de mães que foram restritas de sono durante a gestação. Ainda, o reflexo de sobressalto auditivo, parâmetro de avaliação do desenvolvimento sensório-motor, também se mostrou significativamente prejudicado nos animais provenientes de mães RS. Foi possível verificar, então, na puberdade um período de desenvolvimento ontogenético no qual estão localizadas etapas críticas para o estabelecimento da maturação sexual satisfatória, sendo que qualquer interferência externa prolongada presente nesse período pode ocasionar modificações negativas persistentes na reprodução masculina. Nesse sentido, tornou-se necessário reforçar as atenções para os cuidados durante o período de instalação da puberdade, utilizando-se o rato como modelo animal.

A avaliação do comportamento sexual dos filhotes de mães submetidas à RS na prenhez também apresentou diferenças significativas entre os grupos CONTROLE e RS. Nos descendentes machos de ratas submetidas à RS durante a prenhez, houve significativa redução da motivação sexual, evidenciada pelo aumento na latência para a primeira monta e pela diminuição na quantidade de montas feitas por esses animais durante o teste experimental. Esses resultados provavelmente ocorreram devido à significativa diminuição de progesterona que esses mesmos animais apresentaram. Apesar da diminuição da motivação sexual dos descendentes machos de mães RS durante a gravidez, não houve diferenças significativas no desempenho sexual desse grupo quando comparado ao grupo CONTROLE. Isso deve-se principalmente ao fato de não ter sido verificada redução significativa na concentração de testosterona nesse grupo.

No que se refere aos machos privados/restritos de sono, os achados mostram que os filhotes provenientes desses pais PSP ou RS apresentam um aumento significativo na latência para a primeira monta em relação aos descendentes de machos que tiveram sono normal, indicando um declínio da resposta sexual. Houve também um aumento significativo na latência para a intromissão nos filhos de machos PSP quando comparados aos descendentes de pais CONTROLE e RS. Paralelamente, observamos uma diminuição significativa no número total de montas nos descendentes de pais PSP quando comparados aos filhos de machos CONTROLE e RS, e no número total de intromissões em relação ao grupo CONTROLE. Os descendentes de machos RS apresentaram diminuição do número total de montas comparado ao grupo CONTROLE. Em relação aos hormônios, houve uma diminuição significativa de testosterona nos machos provenientes de pais PSP em comparação com os descendentes de pais CONTROLE. Em resumo, os

resultados demonstram que a falta de sono nos progenitores pode ser prejudicial ao desenvolvimento da primeira geração de filhotes (F1), acarretando marcantes alterações hormonais, diminuição da motivação sexual dos machos, além de alterações no sistema sensório-motor da geração F1. Esses achados alertam que além das consequências já conhecidas da privação de sono, o débito de sono observado atualmente pode prejudicar a fertilidade masculina, e, em decorrência disso, comprometer a perpetuação da espécie.

2.4 Efeitos da privação de sono sobre a resposta sexual masculina em modelos animais de condições clínicas

Os animais de laboratório possuem um papel crucial nas descobertas científicas e nos avanços tecnológicos, fornecendo informações relevantes para o mundo da Ciência e para a vida dos seres humanos e dos animais. Embora o estudo básico experimental em animais apresente algumas limitações quanto à sua aplicabilidade clínica, é ainda o melhor análogo para se estudar as condições encontradas em humanos (Stables et al., 2003; Andersen et al., 2004, 2010). O uso dos modelos animais é valioso, e oferece uma oportunidade de distinguir os diferentes componentes associados a uma determinada condição patológica cuja abordagem clínica seria difícil ou inacessível. Considerando-se que disfunções sexuais, especialmente as DE, apresentam crescente prevalência no mundo e repercutem negativamente na qualidade de vida dos indivíduos, investigamos diversas condições clínicas em modelos animais em que a doença cursava paralelamente aos efeitos da PSP. Assim, a fim de investigar a resposta sexual frente a novos desafios, entre eles algumas doenças de grande prevalência,

propusemos avaliar o comportamento sexual em diferentes modelos animais de condições experimentais e patologias bem caracterizadas.

2.4.1 Hipertensão

No **ARTIGO 22**, nosso enfoque foi verificar a incidência das respostas sexuais frente a linhagens reconhecidas por serem modelos animais genéticos de hipertensão. Essa doença leva, entre suas mais diversas consequências, à disfunção sexual. Essa disfunção inclui problemas relacionados a libido, ereção e ejaculação.

Tem sido relatado que pacientes com hipertensão (Shamloul e Ghanem, 2013) ou ratos espontaneamente hipertensos (SHR) exibem funções eréteis alteradas devido a disfunções nos mecanismos contráteis e de relaxamento dos corpos cavernosos, o que torna essa linhagem um modelo ideal para o teste de drogas para a DE (Behr-Roussel et al., 2003). Nesse estudo, nossa hipótese era a de que o efeito estimulatório da PSP favoreceria a indução de reflexos genitais, e que esses seriam ainda mais pronunciados quando combinados à administração de cocaína. Dessa maneira, poder-se-ia prever que a administração de cocaína aumentaria a ereção nos ratos SHR, os quais já apresentam DE (Hård et al., 1985; Clark et al., 1991). Os resultados revelaram que a proporção de ratos SHR privados de sono paradoxal e injetados com cocaína que exibiram ereção foi significativamente menor quando comparada à de ratos *Wistar* PSP que receberam a mesma droga. A frequência de ereção se mostrou também significativamente diminuída nos ratos SHR após cocaína em relação aos ratos *Wistar*. Logo, esses resultados denotam a participação direta da PSP associada a agentes

dopaminérgicos na indução de ereção em ratos hipertensos, e adiciona novas evidências para o campo de investigação sobre DE e hipertensão.

2.4.2 Diabetes

Em relação ao diabetes, a DE é também uma das queixas comuns desses pacientes. Embora tanto o diabetes como a ereção sejam condições frequentemente descritas (Laumann et al., 1999), a associação entre esses 2 fatores é escassa, e ainda menos investigada em ratos diabéticos.

Devido à emergência de tratamentos promissores tanto para DE como para o diabetes, a necessidade de se estabelecer uma conexão consistente entre esses fatores torna-se um tema interessante e de relativa urgência (El-Sakka, 2003). Por essa razão, examinamos a resposta erétil em ratos da linhagem *Brattleboro* submetidos à PSP e à administração de cocaína. A escolha desses animais foi baseada no fato de que essa linhagem é comumente utilizada como um modelo da deficiência da vasopressina. Os animais são incapazes de sintetizar ou liberar vasopressina, incapacidade essa derivada da deleção de uma única base do gene da vasopressina. A ausência da vasopressina provoca a *diabetes insípida* nos ratos *Brattleboro*, resultando no consumo e excreção de grandes volumes de líquido (Brot et al., 1992). Os resultados mostraram que 60% dos ratos *Brattleboro* submetidos a PSP e injeção de cocaína exibiram ereção, que por sua vez foi significativamente menor em comparação à linhagem *Wistar*. Mais expressivo foi o efeito sobre a frequência de ereção, que também se mostrou significativamente reduzida na linhagem diabética.

Considerando o achado de expressão alterada de proteínas no tecido cavernoso de ratos diabéticos (Sullivan et al., 2005), exploramos por meio de análise

proteica possíveis marcadores moleculares de diagnóstico e prognóstico de DE (**ARTIGO 23**). Recentemente, foi observado que um aumento na expressão de ceruloplasmina no tecido cavernoso tem sido relacionado à DE induzida pelo diabetes (Sullivan et al., 2005). Em particular, a ceruloplasmina é uma proteína de ligação expressa em diversos tecidos, estando envolvida em muitas funções. Adicionalmente, diversas atividades da ceruloplasmina são conhecidas por modular a biodisponibilidade de NO, o qual é necessário para a ereção peniana, sugerindo que o gene da ceruloplasmina possa ser um candidato para a regulação da fisiologia da ereção peniana. Nosso grupo tem demonstrado consistentemente que a PSP aumenta a ereção peniana em ratos machos. Desse modo, investigamos o envolvimento da ceruloplasmina na ereção peniana induzida por PSP, determinando a expressão de 2 isoformas de ceruloplasmina no tecido cavernoso de ratos submetidos à PSP, com ou sem período de recuperação de sono. Nossos resultados demonstraram que a PSP aumentou em 1,3 vezes o nível de RNA mensageiro (RNAm) de ceruloplasmina quando comparado aos controles. Assim, a modulação sutil do nível de RNAm não foi observada a nível proteico, indicando que a ceruloplasmina não é um fator diretamente associado à função erétil relacionada à falta de sono. Conjuntamente, esses achados contribuem para o desenvolvimento de novas ferramentas terapêuticas e para uma melhor compreensão das bases moleculares envolvidas no diabetes.

2.4.3 Obesidade

A prevalência da obesidade tem aumentado substancialmente durante as duas últimas décadas, tornando-se rapidamente uma condição epidêmica em vários países. Segundo o Ministério da Saúde, a proporção de adultos com excesso de

peso tem aumentando de forma progressiva no Brasil, havendo uma prevalência de 48,1% de adultos (52,1% em homens e 44,3% em mulheres) com excesso de peso. Estudos têm demonstrado que a obesidade aumenta o risco de se desenvolver outros tipos de patologias, como diabetes, hipertensão, doença cardíaca coronariana, câncer de mama e SAOS, entre outras. Entre elas, embora menos reconhecida, há a disfunção sexual (Trischitta, 2003).

Em ratos, um modelo para a obesidade genética é encontrado na linhagem *Zucker*. Essa linhagem mostrou capacidade reprodutiva reduzida (Piser et al., 1981), sendo que um dos fatores contribuintes para essa infertilidade é a diminuição do comportamento sexual do macho, descrito tanto nos ratos jovens como nos idosos, ambos obesos (Edmonds e Withyachumnarnkul, 1980). Considerando essa marcante diminuição na atividade sexual demonstrada por essa linhagem juntamente com a impossibilidade de mantê-los sobre uma plataforma muito estreita (6,5 cm de diâmetro), optamos por estudar os efeitos da interação da obesidade e da privação de sono sobre os reflexos genitais em ratos cuja dieta era hipercalórica e hiperlipídica. Alimentos altamente energéticos e palatáveis foram oferecidos aos animais na tentativa de induzir uma hiperfagia voluntária e, conseqüentemente, a obesidade (Sclafani e Springer, 1976; Estadella et al., 2003). De fato, ratos alimentados após o desmame com essa dieta (que, além de altamente palatável, é rica em gordura) apresentam aumento no ganho de peso corporal e nos depósitos de gordura (Lladó et al., 1997). Dessa maneira, após 9 semanas consumindo a chamada “dieta de cafeteria”, os ratos foram submetidos à PSP e desafiados com uma injeção de cocaína (**ARTIGO 24**). Os resultados indicaram que a “dieta de cafeteria” acarretou uma redução significativa na frequência de ereção peniana em ratos, quando comparados aos animais que receberam uma dieta normal durante o

mesmo período. Esses dados contribuem para a noção de obesidade levando a disfunções sexuais, além de mostrarem que a obesidade induzida pela “dieta de cafeteria” constitui um modelo viável para o estudo da obesidade associada à ingestão aumentada de alimentos em ratos. Ressalta-se que 98% dos casos de obesidade são de origem exógena, ou seja, causados pela ingestão excessiva de calorias e baixa atividade física (Sande e Mahan, 1991).

Além da influência da oferta excessiva de calorias sobre a resposta sexual, investigamos também como a condição contrária (restrição alimentar) poderia interferir na resposta sexual. A restrição alimentar é caracterizada pela redução da quantidade total de alimento ingerido, e tem sido utilizada espontaneamente por muitos indivíduos para aumentar a expectativa de vida. Embora a diversidade de benefícios provocados pela baixa ingestão calórica tenha sido muito estudada, as consequências da restrição alimentar no padrão de sono e na resposta sexual em modelos animais ainda permaneciam como uma área pouco estudada. Por outro lado, a privação de sono, uma condição cada vez mais prevalente na nossa sociedade, resulta em efeitos adversos ao organismo, exceto pela ação antidepressiva e por aumentar os reflexos genitais em ratos. Nesse sentido, avaliamos os reflexos genitais (**ARTIGO 25**), o comportamento sexual e o perfil hormonal (**ARTIGO 26**) em ratos submetidos à restrição alimentar. Verificou-se que animais submetidos à restrição alimentar crônica e posteriormente à PSP não apresentaram um aumento de reflexos genitais mesmo quando desafiados com cocaína (injeção aguda). Para os experimentos de comportamento sexual (**ARTIGO 26**), os animais também foram submetidos à PSP ou mantidos em gaiolas-moradia. Foi observada uma diminuição da motivação e do desempenho sexual em ambos os grupos PSP (restrição alimentar e comida à vontade) comparados ao grupo

CONTROLE. Em relação às dosagens hormonais, observamos que ambos os grupos submetidos à PSP tiveram as concentrações de testosterona diminuídas em relação aos respectivos grupos controle, enquanto houve um aumento significativo nos níveis de progesterona no grupo restrição alimentar-PSP em relação ao grupo restrição alimentar com sono normal. Nossos resultados demonstram que, embora a restrição alimentar promova efeitos positivo como o de aumentar a longevidade, quando associada a uma situação de privação de sono essa condição diminui a sua resposta sexual.

2.4.4 Epilepsia

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a epilepsia é a enfermidade neurológica mais comum e mais antiga conhecida. É uma condição crônica que apresenta aspectos fisiopatológicos heterogêneos e que se manifesta clinicamente por crises espontâneas recorrentes convulsivas e não-convulsivas. Trata-se de uma doença crônica que afeta cerca de 1 a 3% da população mundial, entre homens e mulheres, em todas as idades e em diferentes níveis de gravidade.

Após o diagnóstico, os pacientes com epilepsia geralmente apresentam uma maior preocupação com a qualidade de vida, uma vez que diversos fatores, como, por exemplo, crises recorrentes, efeitos colaterais do tratamento e reações negativas do próprio portador, entre outros (Laidlaw, 1974, 1975), podem contribuir para uma piora na qualidade de vida. Em particular, a vida sexual é prejudicada nos portadores de epilepsia, acarretando tanto diminuição da libido como do orgasmo (Epilepsy Foundation, 2012; Matos et al., 2012, 2013). Um fator importante que evidencia isso são as alterações hormonais, que acontecem tanto em homens como em mulheres com epilepsia (Pennell, 2009). Como consequência, há um

comprometimento da função reprodutiva e da atividade sexual desses indivíduos. Entretanto, ainda é difícil discernir com clareza os impactos específicos da epilepsia daqueles diretamente relacionados aos medicamentos sobre a função sexual dos pacientes. Dessa forma, com o objetivo de avaliar as alterações na função sexual de indivíduos com epilepsia, a observação de comportamentos equivalentes em ratos (ereção, ejaculação e comportamentos motivacionais e de desempenho) é de suma importância. Nossos resultados demonstraram que antes da indução de epilepsia, pela administração de pilocarpina, 90% dos ratos sexualmente experientes apresentavam ejaculação. Porém, apenas 10% desses mesmos animais apresentou ejaculação após a indução de epilepsia (**ARTIGO 27**). Esses dados mostram que há uma redução dramática do desempenho sexual em ratos com epilepsia induzida. Ainda, 3 desses animais apresentaram crises epiléticas durante o teste de comportamento sexual.

Em conjunto, essas informações trazem à tona a importância não só dos modelos animais, mas também sem o viés da intervenção medicamentosa antiepilética. Existe um grande questionamento na literatura a respeito das drogas antiepiléticas, uma vez que elas podem potencializar os efeitos da disfunção sexual em homens (Matos et al, 2013). No entanto, com nosso trabalho, podemos sugerir que a epilepsia *per se* pode acarretar problemas sexuais em ratos machos, resultado também encontrado em ratas (Alvarenga et al., 2013). Dessa forma, esses resultados ajudarão na compreensão da interação entre o comportamento sexual e a epilepsia, bem como a traduzir possíveis questões clínicas envolvidas nessa associação.

2.4.5 Insuficiência renal crônica

Outro desafio que nos trouxe resultados muito interessantes foi o estudo da insuficiência renal crônica (IRC - **ARTIGO 28**). A IRC é uma doença de elevada morbidade e mortalidade, que requer tratamento de alto custo e possui grande impacto na qualidade de vida. Ao longo de sua progressão, é frequente o aparecimento de distúrbios do sono, os quais têm sido associados a uma menor chance de sobrevida nessa população. Devido à exposição a situações estressoras como a diálise, à permanência constante em ambiente hospitalar e à alta prevalência de distúrbios de sono, a RS constitui outro fator inerente ao cotidiano do paciente com IRC. Sabe-se, porém, que o sono exerce funções essenciais na restauração e manutenção da homeostasia corporal, sugerindo um possível papel da falta de sono no avanço da IRC. Assim, um tratamento alternativo que pudesse prevenir ou tratar as possíveis complicações decorrentes da falta de sono, modulando a evolução da doença, seria um avanço de grande relevância. Nesse contexto, ressalta-se o uso do sildenafil (já testado anteriormente - **ARTIGO 17**), que tem apresentado efeitos benéficos nos sistemas renal, cardiovascular e sexual. Assim, avaliamos os efeitos do sildenafil e da RS na progressão da IRC nos parâmetros sexuais. Observou-se que o tratamento com sildenafil foi capaz de reduzir o desenvolvimento de hipogonadismo e de DE. Frente à RS, houve uma melhora no desempenho sexual, apontando para outros fatores como, por exemplo, os hormônios sexuais. Com relação aos níveis de testosterona, encontramos alterações marcantes no grupo IRC tratado com veículo e não restrito de sono, o qual apresentou redução significativa nos níveis de testosterona quando comparado aos grupos controle tratado com veículo e IRC tratados com sildenafil. Entretanto, a RS foi capaz de igualar todos os animais, uma vez que os grupos controle, IRC tratado com veículo e IRC tratado

com sildenafil, apresentaram uma redução significativa nos níveis de testosterona após a RS, permanecendo semelhantes entre si. Esses resultados confirmam dados da literatura referentes ao hipogonadismo característico da IRC (para revisão ver Anantharaman e Schmidt, 2007) e aos efeitos da falta de sono nos níveis de testosterona (nossos achados prévios). Já os níveis de progesterona apresentaram aumento significativo em função da RS, independentemente do tratamento e da doença. Diferentemente de nossos achados, Blacker e colaboradores (1991) descreveram uma redução nos níveis de progesterona em ratos urêmicos. Porém, de acordo com nossos dados, o aumento da progesterona induzido pela RS correlaciona-se com a melhora na motivação e no desempenho sexual observado nos animais RS. As anormalidades endócrinas, especialmente os baixos níveis de testosterona, diminuem a libido e a frequência da relação sexual, contribuindo para o desenvolvimento da DE. Esse estudo mostrou que o tratamento com sildenafil apresentou benefícios para a IRC, principalmente quando não associado à RS, pois retardou o avanço da doença e evitou o desenvolvimento da hipertensão e da DE. Esses achados sugerem que para um melhor tratamento e evolução da IRC se faz necessária uma boa qualidade e quantidade adequada de sono.

Embora se extrapolar dados obtidos em animais de experimentação para condições clínicas sob contexto de privação de sono não seja uma possibilidade imediata, nossos achados corroboram dados anteriores que demonstraram uma redução da função erétil em homens e propiciam uma evidência adicional para a validação desse modelo no estudo dos mecanismos encontrados em condições patológicas.

2.5. Estudos clínicos sobre a associação entre problemas de sono e disfunção erétil

Um indicativo da relevância de se estudar a fisiologia da ereção peniana é que a prevalência da DE tem aumentado dramaticamente na população mundial. A DE é definida como a incapacidade persistente de se obter ou manter uma ereção peniana suficiente para a atividade sexual satisfatória. Em 1995, a DE era estimada em mais de 150 milhões de homens. Considerando o envelhecimento da população de países ocidentais, estima-se que mais de 300 milhões de homens serão afetados por DE no ano de 2025 (Bellinghieri et al., 2006).

Em 2007, realizamos um levantamento epidemiológico denominado de EPISONO sobre os fatores de risco relacionados a distúrbios de sono na maior cidade do Brasil. O estudo contou com 1042 participantes (dos quais 467 eram homens) com idades entre 20 e 80 anos da época de seu ingresso, e durante o estudo houve avaliações de técnicas e procedimentos clínicos e epidemiológicos atualizados para a representação exata da população da cidade de São Paulo em termos de sexo, idade e classe socioeconômica (Santos-Silva et al., 2009). Na realização do estudo EPISONO, aplicamos o questionário Índice Internacional de Função Erétil (IIEF - Rosen, 1998). Esse questionário foi validado para a língua portuguesa em 2001 (Rhoden et al., 2002), e é atualmente um dos questionários auto-aplicáveis para avaliação de DE mais utilizados em pesquisas sobre o tema. Com base nesses aspectos, o IIEF-5 foi o questionário escolhido para avaliar e estratificar a DE relacionada a problemas de sono na sequência de trabalhos descrita a seguir.

Constatamos que 17,08% dos indivíduos paulistanos apresentam alguma queixa de DE, sendo elas principalmente relacionadas a problemas de sono

(**ARTIGO 29**). Mais especificamente, a prevalência de DE em grupos com idade ajustada (< 50 anos) foi de 14,8% em homens com sono REM reduzido e 11,3% em homens com sono fragmentado. A obesidade, baixos níveis de testosterona, queixas da qualidade de vida, índice de apneia-hipopneia (IAH) acima de 15 e SAOS também foram associados a uma maior queixa de DE. Pela literatura, sabe-se que dentre os vários comprometimentos consequentes da SAOS destacam-se as disfunções sexuais. Nesse sentido, Gonçalves e colaboradores (2005) observaram que 48% dos pacientes apneicos que apresentam fragmentação de sono possuem DE, problemas de ejaculação e diminuição da libido. Sujeitos apneicos apresentam uma redução do sono REM em decorrência da apneia, e, conseqüentemente, apresentam diminuição da atividade erétil noturna (Teloken et al., 2006). Em conjunto com nossos dados, pode-se afirmar que o comprometimento do padrão de sono bem como dos hormônios sexuais é um fator relevante para a DE. Como exemplo, a SAOS exerce um efeito negativo marcante sobre a função erétil, causando detrimento da atividade sexual.

Para uma melhor compreensão da função do sono na resposta erétil, ações multidisciplinares se tornaram necessárias. Nesse contexto, a ênfase é colocada não apenas nos estudos comportamentais, mas também e especialmente nas áreas de Bioquímica e de Biologia Molecular. Assim, iniciamos uma série de estudos em que nos propusemos a ampliar a investigação dentro dessa linha de pesquisa, avaliando os processos moleculares envolvidos não só na ereção peniana e na função sexual de animais expostos à privação de sono, mas também nas queixas de DE apresentadas por homens e nos problemas de sono. Existem vários meios de se avaliar um paciente com DE, incluindo história clínica, exame físico, exames laboratoriais (hemograma, glicose, perfil lipídico, hormônios) e testes de ereção com

medicamentos orais. De fato, nos últimos anos, a Biologia Molecular e as novas ferramentas de genética têm resultado em contribuições significativas para a comunidade científica. O estudo das variações genéticas como biomarcadores no diagnóstico de inúmeras patologias, como, por exemplo, a DE, tem gerado considerável entusiasmo na área da Saúde. O mecanismo fisiológico pelo qual os polimorfismos podem estar envolvidos com a DE tem sido pouco investigado e não é completamente compreendido. Um número crescente de estudos tem sido realizado para identificar genes candidatos associados a esse problema sexual.

Para tanto, exploramos os dados coletados durante a realização do estudo EPISONO para investigar essa relação entre queixas de DE, padrão de sono e presença de possíveis polimorfismos. Após o registro polissonográfico de noite inteira, as amostras de sangue em jejum foram coletadas para análise bioquímica e hormonal, assim como para extração do DNA a ser utilizado em estudos genéticos. Inicialmente foram selecionadas 4 variantes genéticas ou polimorfismos, localizados em genes potencialmente envolvidos na fisiopatologia da DE: enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS - **ARTIGO 30**), enzima conversora de angiotensina (ECA - **ARTIGO 31**), receptor de progesterona (PROGINS - **ARTIGO 32**) e de testosterona (AR+CAG - **ARTIGO 33**).

Considerando que fatores populacionais específicos poderiam influenciar o papel fisiológico do polimorfismo G894T eNOS, a hipótese inicial era de que esse polimorfismo é um fator de risco independente para DE. Nesse sentido, avaliamos inicialmente o polimorfismo G894T eNOS na amostra populacional do EPISONO em homens com e sem queixas de DE. Os resultados dos estudos de associação genética demonstraram que os polimorfismos localizados nos genes eNOS e dos receptores de progesterona PROGINS e da testosterona CAG parecem não

influenciar o risco para o desenvolvimento de DE nessa população. Por outro lado, em indivíduos entre 40-55 anos de idade, a presença da variante alélica do gene da ECA (**ARTIGO 31**) está associada a uma maior susceptibilidade à DE, independentemente de fatores como diabetes, hipertensão, IMC, níveis de testosterona e ancestralidade genética (Guindalini et al., 2010). Esses resultados sobre a ECA encontram-se apoiados pela literatura, uma vez que a ECA é uma das principais enzimas-chave da homeostase do sistema cardiovascular e das doenças cardiovasculares (para revisão ver Shi et al., 2010). Aumento dos níveis de angiotensina II (Ang II) causam a hipertensão, que é um importante fator de risco para a DE (ver revisão de Fraga-Silva et al., 2013). De fato, demonstrou-se níveis aumentados de Ang II no corpo cavernoso humano após episódios de ereção, indicando o papel ativo dessa molécula no processo erétil e em sua detumescência (Becker et al., 2001).

Mais recentemente, tem sido dada atenção à ação dos marcadores inflamatórios em condições clínicas de DE. Paralelamente, a DE tem sido associada a doenças cardiovasculares e problemas de sono, que podem ser acompanhadas de concentrações elevadas de citocinas pró-inflamatórias, como por exemplo, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Nesse sentido, no **ARTIGO 34** testamos a hipótese de que os níveis de TNF- α deveriam estar aumentados em homens com queixas de DE, e que essa condição estaria relacionada à SAOS. Os resultados demonstraram que homens com queixas de DE apresentam valores mais altos de TNF- α em comparação a homens sem queixas, independentemente da SAOS. Esses achados ilustram a existência de uma associação entre a DE e o TNF- α , de maneira independente da ocorrência de SAOS. Como esse estudo envolveu uma amostra heterogênea e representativa da cidade de São Paulo, com uma combinação de

origens étnicas e classes sociais, sugere-se que a presença de níveis aumentados de TNF- α em homens seja levada em consideração na investigação clínica dos processos mecanicistas da DE. Em conjunto, nossas investigações indicam um possível papel de diferentes polimorfismos na queixa de DE associada ou não com distúrbios de sono. Certamente, ainda restam dúvidas sobre a função da heterogeneidade genética e fenotípica potencial em outras amostras.

Melhorar a nossa compreensão dos processos envolvidos na etiologia genética da DE será essencial para oferecer aos pacientes um diagnóstico mais precoce e preciso a fim de proporcionar medidas terapêuticas e preventivas mais eficazes e individualizadas, levando os benefícios da Medicina personalizada para a área da disfunção sexual, especialmente nos casos associados a problemas de sono.

Durante esses 13 anos realizando estudos e abrindo portas para novas descobertas, fizemos por diversas vezes revisões detalhadas de todos os tópicos abordados nos trabalhos, fornecendo uma apreciação crítica da fundamentação teórica com destaque para os desafios da área e suas perspectivas futuras. Com efeito, 9 revisões foram publicadas sobre os tópicos descritos aqui nesta Tese.

3. PARTICIPAÇÃO DA CANDIDATA NO CENÁRIO MUNDIAL

A linha de pesquisa iniciada na tese de Doutorado da candidata tem revelado diversas evidências para uma forte associação entre a redução de sono e modificações na função sexual em ratos machos e em homens. Dessa forma, nos últimos 13 anos, a candidata tem trabalhado com foco principal na pesquisa sobre a função sexual modulada pelo sono sob diferentes abordagens. Como resultado dessa trajetória, mais de 60 artigos indexados sobre o tema foram publicados. Essas contribuições consolidaram o grupo como um dos principais na pesquisa desse tópico no cenário internacional. De fato, os artigos do nosso grupo contribuíram de forma significativa para que a produção liderasse o *ranking* dos autores mais produtivos com o tema “sono e ereção” na base de dados *Web of Science*. Além disso, os brasileiros Prof. Sergio Tufik e a Dra. Magda Bignotto, reconhecidos colaboradores dessa produção científica, encontram-se em 2º e 5º lugares, respectivamente (Figura 1). Esse panorama promove consequente visibilidade da geração de conhecimento feita no nosso País, e fortalece a inserção do Brasil (Figura 2) e de pesquisadores brasileiros (Figura 3) no *ranking* mundial de pesquisas sobre o tema específico “sono”.

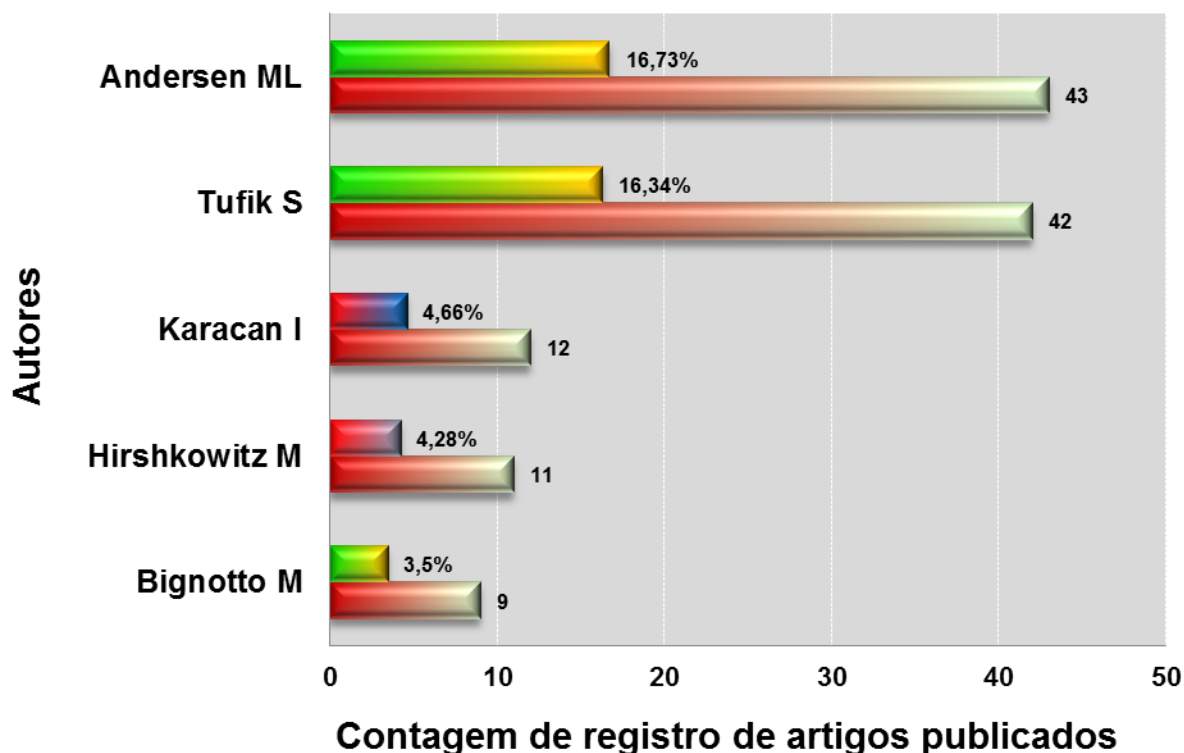


Figura 1 - Relação da produção científica mundial sobre “sono e ereção” dos 5 pesquisadores mais produtivos no tema no período de 2000 a 2013 (período que compreende a publicação dos trabalhos feitos pela candidata). Para cada pesquisador, a coluna superior em porcentagem reflete a proporção de artigos publicados em relação à totalidade de 257 artigos encontrados para o tema específico, e a coluna inferior ilustra o número absoluto de artigos publicados pelo autor nesse tema. Fonte: *Web of Science* (03/09/2013).

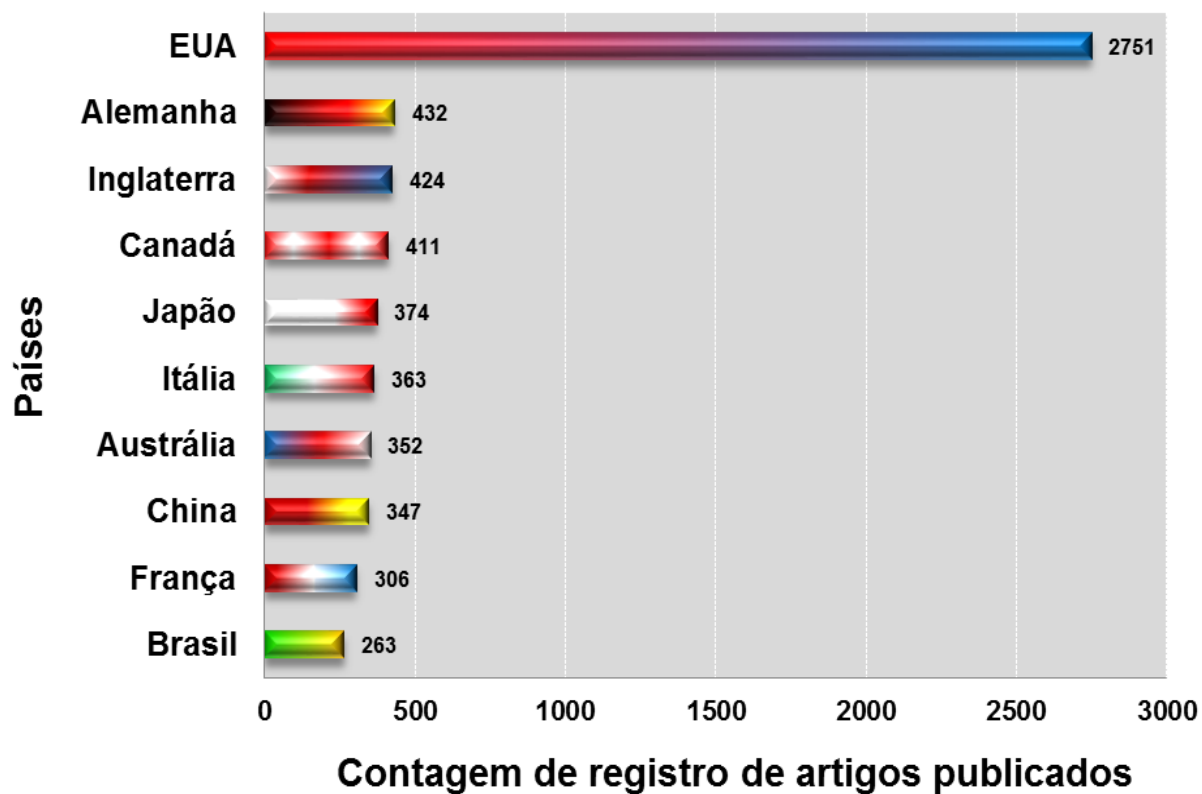


Figura 2 - Ilustração dos 10 países com maior presentatividade na produção científica mundial considerando-se o tema “sono”. A coluna ilustra o número de artigos produzidos no ano corrente. Fonte: *Web of Science* (03/09/2013).

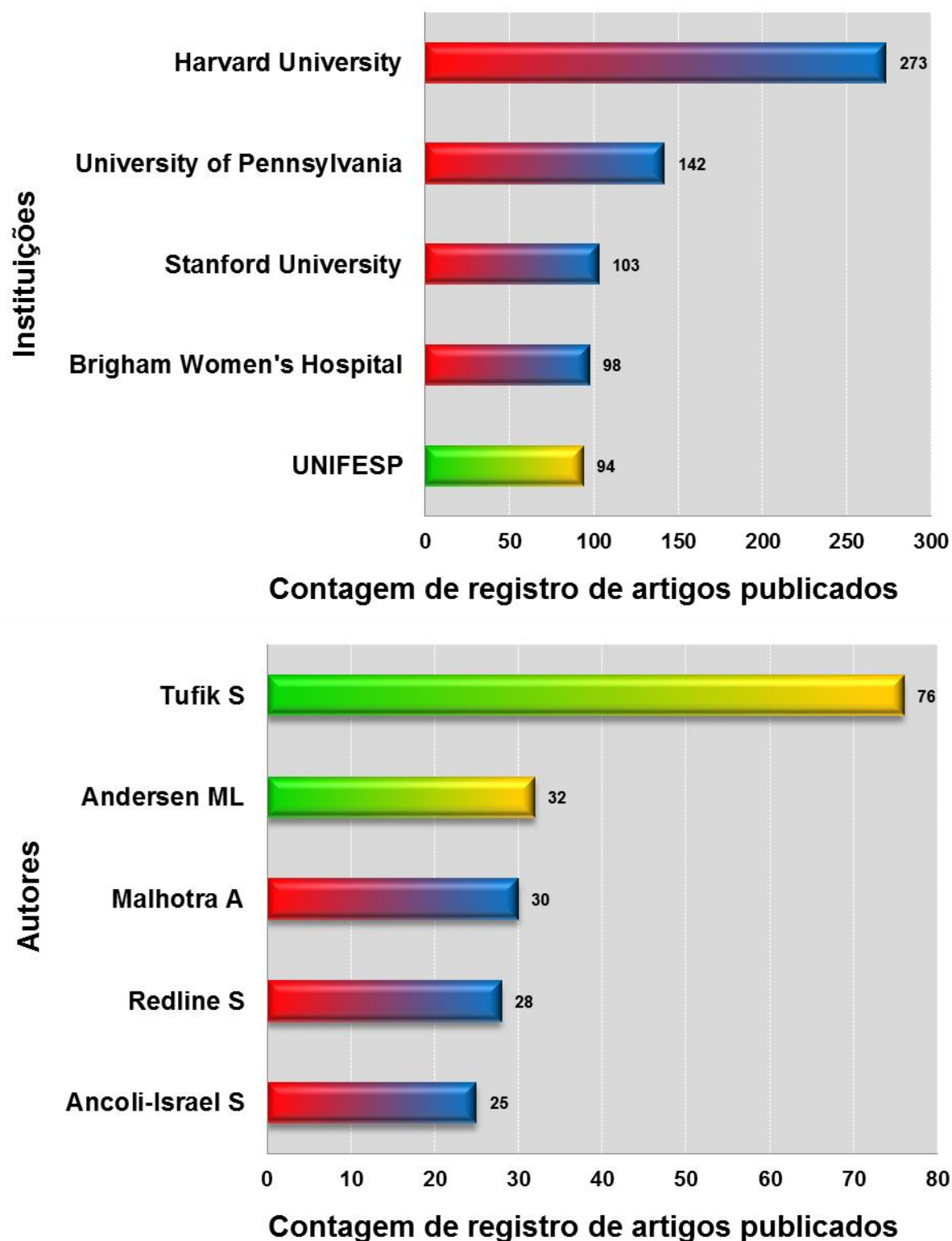


Figura 3 - Produção científica mundial considerando-se o tema “sono” das 5 instituições (painel superior) e dos 5 pesquisadores (painel inferior) mais produtivos nessa área específica, sendo 2 dos autores brasileiros. As colunas ilustram o número de artigos produzidos no corrente ano. Fonte: *Web of Science* (03/09/2013).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Até o momento, as evidências sugerem que, embora as bases fisiológicas do sono paradoxal/REM sejam desconhecidas, essa fase é uma das mais relevantes dentre as que constituem a arquitetura do sono e, portanto, não pode e não deve ser ignorada. A menos que seus mecanismos básicos de geração e suas funções sejam conhecidos, as consequências de perturbações ocorridas nessa fase permanecerão um mistério. Diversos tipos de estudo, incluindo a estimulação e lesão de estruturas supostamente relacionadas ao sono paradoxal, injeções químicas, e principalmente a privação dessa fase do sono têm sido conduzidos para a investigação e compreensão de seus mecanismos. Como vantagens, diferentemente de muitos outros, o método da privação de sono paradoxal não é invasivo, simulando uma situação natural no sentido de que, no modo de vida atual, muitos indivíduos sofrem privação de sono REM, predominantemente na segunda metade da noite por despertares precoces ou fragmentação do sono.

O sono paradoxal/REM é um fenômeno presente em todas as faixas etárias e na maioria das espécies. Há uma grande necessidade de recuperação homeostática desta fase do sono. Caso uma recuperação adequada não seja permitida, a morte pode se seguir após um período prolongado de sua privação. Também já foi demonstrado que o sono REM é afetado em diversas condições clínicas, indicando a integração e a participação crítica dessa fase do sono na manutenção da fisiologia normal e dos processos vitais. Contudo, após mais de meio século da sua descoberta, sua função e os eventos associados a essa fase do sono (ex. ereção peniana) continuam a constituir um desafio para a maioria dos pesquisadores que estudam a neurobiologia do sono.

Nos últimos anos, o mundo tem visto mudanças fenomenais em diversas áreas, como tecnologia, genética e informática. A globalização coloca desafios significativos para nossos novos estilos de vida. Nossa realidade atual confronta-se com a internet, telefones celulares, máquinas de alta tecnologia, atividades interativas, imagens em 3-D e equipamentos de informática em quase toda parte. Esse estilo de vida imposto pela sociedade moderna caracteriza-se por um crescimento exponencial de encargos sociais, profissionais e financeiros, que podem tanto diretamente levar a uma diminuição no tempo total de sono como gerar um aumento do estresse psicológico, acarretando indiretamente um sono não-reparador. Esse ciclo, uma vez iniciado, potencialmente suscita repercussões fisiológicas deletérias. Como pesquisadores e cientistas do sono, não podemos ser coniventes ao aceitarmos os malefícios da rotina atribulada e da dinamicidade do estilo de vida atual. Cabe aos pesquisadores informar a população de maneiras de conciliar as atividades diárias e o ritmo de vida moderno às boas práticas de sono, para que, mesmo em uma sociedade ativa 24/7, possa-se garantir aos indivíduos tempo suficiente para repouso, descanso e sono com qualidade, ou seja, saúde.

Os homens, invariavelmente, podem, como resultado de idade, medo, ansiedade, fadiga, doenças, uso de álcool ou drogas ilícitas, entre outros fatores, apresentar problemas sexuais, especialmente a disfunção erétil. Vários fatores de estresse, entre eles a falta de sono, podem também levar à diminuição da motivação e a problemas de desempenho sexual. Ainda, condições clínicas, como por exemplo, doenças renais, obesidade, diabetes e hipertensão podem contribuir para o desenvolvimento da disfunção erétil. Ressalta-se que essas condições são frequentemente acompanhadas de problemas de sono.

Ao longo dos últimos anos, nossos estudos evidenciam e apontam para uma forte associação entre a redução de sono e modificações no comportamento sexual. Nossos dados sugerem, assim, que, após a privação de sono paradoxal, os processos que regulam a função sexual, seja em animais ou homens, mostram-se complexos, intrincados e dependentes de bases hormonais. Os resultados têm consistentemente demonstrado a influência da privação de sono paradoxal nos reflexos genitais de ratos machos em diferentes idades. Manipulações dessas variáveis foram concebidas e executadas na tentativa de ampliar a compreensão das interações complexas subjacentes à regulação do comportamento sexual em mamíferos, primordialmente das ereções relacionadas ao sono. Nos últimos anos, nosso grupo tem demonstrado os efeitos da privação de sono paradoxal na função erétil e no comportamento sexual. De fato, a privação de sono paradoxal apresenta um efeito facilitatório sobre os reflexos genitais em ratos jovens, adultos e idosos. Em particular, a privação de sono paradoxal apresenta efeitos heterogêneos, porém significativos no repertório completo do comportamento sexual. Por exemplo: 1) facilitação da ereção peniana, 2) a motivação e o desempenho sexual, refletidos por latências de monta e intromissão, respectivamente, foram reduzidos nos grupos privados de sono quando comparados aos respectivos grupos com sono normal. Em relação aos achados com progesterona, encontramos que 3) a administração de progesterona após a privação de sono em ratos castrados e em ratos hipertensos induziu um aumento pronunciado de ereções em relação aos ratos administrados com testosterona; enquanto que 4) o pré-tratamento com mifepristona (antagonista do receptor de progesterona) reduziu significativamente o percentual de ratos que apresentaram ereções após privação de sono. 5) os níveis de progesterona estavam mais elevados nos animais com melhor desempenho sexual do que naqueles com

baixo comportamento copulatório. Nota-se que esses estudos indicam a ação direta da progesterona nos eventos de ereção peniana e resposta sexual. Portanto, pode-se afirmar que a progesterona pode ser um fator hormonal relevante para promover uma boa resposta sexual em ratos machos modulada pela privação de sono paradoxal. Por fim, 6) encontramos possível papel de diferentes polimorfismos na queixa de disfunção erétil associada ou não com distúrbios de sono em homens incluídos em levantamento epidemiológico da cidade de São Paulo.

O comportamento sexual é um tópico vasto, complexo e fascinante, que vai desde os atos mais mecânicos, reflexos e biológicos da cópula até a grande diversidade de práticas culturais nas sociedades humanas, além de ser dependente de inúmeras interações. Acredita-se que os mecanismos neurofisiológicos ligados aos reflexos genitais, assim como as demais manifestações do comportamento sexual, resultem da somatória de vários fatores. Embora alguns mecanismos tenham sido propostos, ainda existem dúvidas de como esses fatores interagem.

Sem ereção, não há sexo. Sem sexo, não há reprodução. E sem reprodução, nenhuma espécie pode sobreviver. Esses simples fatos, além de milhões de anos de evolução, fizeram com que as ações do sistema nervoso central gerando comportamento sexual fossem bem elaborados visando à nossa sobrevivência. Por outro lado, ao longo dos últimos anos tem-se observado uma redução da taxa de fecundidade. Paralelamente, o estilo de vida imposto pela sociedade atual promove modificações comportamentais, como, por exemplo, uma redução do tempo de sono.

Em virtude das pesquisas de Neuroendocrinologia terem sido focalizadas no papel dominante da testosterona no comportamento sexual, e com base nas muitas evidências que dão suporte a esse fato, há uma resistência natural considerável à possibilidade de que a progesterona também possa contribuir decisivamente para

esse comportamento. Em relação aos nossos estudos, acreditamos que eles possam de alguma maneira adicionar mais evidências para a marcante participação da progesterona em eventos essenciais da reprodução, como a ereção. Em parte, a informação limitada e escassa sobre o papel desse hormônio nos reflexos genitais masculinos vem a ser consequência do fato de ser considerado como um hormônio feminino. Afortunadamente, pelo menos em roedores, o envolvimento expressivo da progesterona na resposta sexual de machos sob interferência da neurobiologia do sono proporciona novas oportunidades para uma maior compreensão de seus efeitos sobre a função sexual masculina.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersson KE. Pharmacology of penile erection. *Pharmacol Rev*, 53:417-450, 2001
- Alexander BM, Stellflug JN, Rose JD, Fitzgerald JA, Moss GE. Behavior and endocrine correlates related to exposure of heterosexual, low-performing and male-oriented domestic rams to rams and ewes in estrus. *J Anim Sci*, 77:1864-1869, 1999
- Alghanim N, Comondore VR, Fleetham J, Marra CA, Ayas NT. The economic impact of obstructive sleep apnea. *Lung*, 186:7-12, 2008
- Alvarenga TA, Patti CL, Andersen ML, Silva RH, Calzavara MB, Lopez GB, Frussa-Filho R, Tufik S. Paradoxical sleep deprivation impairs acquisition, consolidation, and retrieval of a discriminative avoidance task in rats. *Neurobiol Learn Mem*, 90:624-632, 2008
- Alvarenga TA, Tufik S, Pires GN, Andersen ML. Influence of food restriction on lipid profile and spontaneous glucose levels in male rats subjected to paradoxical sleep deprivation. *Clinics*, 67:375-380, 2012
- Alvarenga TA, Matos G, Scorza FA, Amado D, Cavaleiro EA, Tufik S, Andersen ML. Sexual response in female rats with status epilepticus. *Epilepsia*, 54:644-8, 2013
- Anantharaman P, Schmidt RJ. Sexual function in chronic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis*, 14:119-125, 2007
- Andersen ML, D'Almeida V, Ko GM, Kawakami R, Martins PJF, Magalhães LE, Tufik S. Experimental Procedure. Em: UNIFESP (Ed.) *Ethical and Practical Principles of the Use of Laboratory Animals*. São Paulo, Brasil; p. 45-69, 2004
- Andersen ML, Tufik S. Premature ejaculation - dopaminergic control of ejaculation. *Drug Discov Today*, 2:41-46, 2005
- Andersen ML, Perry JC, Tufik S. Acute cocaine effects in paradoxical sleep deprived male rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 29:245-451, 2005a
- Andersen ML, Papale LA, Hipólido DC, Nobrega JN, Tufik S. Involvement of dopamine receptors in cocaine-induced genital reflexes after paradoxical sleep deprivation. *Behav Brain Res*, 160:44-50, 2005b
- Andersen ML, Tufik S. Does male sexual behavior require progesterone? *Brain Res Rev*, 51:136-43, 2006

- Andersen ML, Bittencourt LR, Antunes IB, Tufik S. Effects of progesterone on sleep: a possible pharmacological treatment for sleep-breathing disorders? *Curr Med Chem*, 13:3575-3582, 2006
- Andersen ML, Tufik S. The effects of testosterone on sleep and sleep-disordered breathing in men: its bidirectional interaction with erectile function. *Sleep Med Rev*, 12:365-379, 2008
- Andersen, ML, Perry, JC, Bignotto, M, Tufik, S. Differential responses of sleep loss and chronic stressors on lipid metabolism. *Sleep Science*, 2:135-140, 2009
- Andersen ML, Tufik S. Animal models as ethical tools in biomedical research. Ed. Monica L. Andersen e Sergio Tufik, 563 p, 2010
- Andersen ML, Alvarenga TF, Mazaro-Costa R, Hachul HC, Tufik S. The association of testosterone, sleep, and sexual function in men and women. *Brain Res*, 1416:80-104, 2011
- Andersen ML, Hirotsu C, Tufik S. Interactions between sleep, stress and metabolism: from physiological to pathological conditions. Artigo submetido
- Ang HH, Ngai TH. Aphrodisiac evaluation in non-copulator male rats after chronic administration of *Eurycoma longifolia* Jack. *Fundam Clin Pharmacol*, 15:265-268, 2001
- Antunes IB, Andersen ML, Baracat EC, Tufik S. The effects of paradoxical sleep deprivation on estrous cycles of the female rats. *Horm Behav*, 49:433-440, 2006
- Aserinsky E, Kleitman N. Regularly occurring periods of eye motility, and concomitant phenomena, during sleep. *Science*, 118:273-274, 1953
- Asley R. Cocaine: its history, uses and effects. New York: St. Martins's Press, 1975
- Azadzo KM, Kim N, Brown ML, Goldstein I, Cohen RA, Saenz DE, Tejada I. Endothelium-derived nitric oxide and cyclooxygenase productions modulate corpus cavernosum smooth muscle tone. *J Urol*, 147:220-225, 1992
- Bagnato MC, Nery LE, Moura SM, Bittencourt LR, Tufik S. Comparison of AutoSet and polysomnography for the detection of apnea-hypopnea events. *Braz J Med Biol Res*, 33:515-9, 2000
- Baumgartner A, Dietzel M, Saletu B, Wolf R, Campos-Barros A, Gräf KJ, Kürten I, Mannsmann U. Influence of partial sleep deprivation on the secretion of thyrotropin, thyroid hormones, growth hormone, prolactin, luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, and estradiol in healthy young women. *Psychiatry Res*, 48:153-178, 1993

- Becker AJ, Uckert S, Stief CG, Scheller F, Knapp WH, Hartmann U et al. Plasma levels of angiotensin II during different penile conditions in the cavernous and systemic blood of healthy men and patients with erectile dysfunction. *Urology*, 58:805-10, 2001
- Behr-Roussel D, Chamiot-Clerc P, Bernabe J, Mevel K, Alexandre L, Safar ME, et al. Erectile dysfunction in spontaneous hypertensive rats: pathophysiological mechanisms. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 284:R682-688, 2003
- Bellinghieri G, Savica V, Santoro D. Vascular erectile dysfunction in chronic renal failure. *Semin Nephrol*, 26:42-5, 2006
- Beutler LE, Karacan I, Anch AM, Salis PJ, Scott FB, Williams RL. MMPI and MIT discriminators of biogenic and psychogenic impotence. *J Consult Clin Psychol*, 43:899-903, 1975
- Beyer C, Morali G, Naftolin F, Larsson K, Perez-Palacios G. Effect of some antiestrogens and aromatase inhibitors on androgen induced sexual behaviour in castrated male rats. *Horm Behav*, 7:353-363, 1976
- Bialy M, Rydz M, Kaczmarek L. Precontact 50-kHz vocalizations in male rats during acquisition of sexual experience. *Behav Neurosci*, 114:983-990, 2000
- Bijwadia JS, Ejaz MS. Sleep and critical care. *Curr Opin Crit Care*, 15:25-9, 2009
- Bittencourt LR, Suchecki D, Tufik S, Peres C, Togeiro SM, Bagnato MC, Nery LE. The variability of the apnoea-hypopnoea index. *J Sleep Res*, 10:245-51, 2001
- Bittencourt LR, Lucchesi LM, Rueda AD, Garbuio SA, Palombini LO, Guilleminault C, Tufik S. Placebo and modafinil effect on sleepiness in obstructive sleep apnea. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 32:552-9, 2008
- Bittencourt LR, Santos-Silva R, Taddei JA, Andersen ML, de Mello MT, Tufik S. Sleep complaints in the adult Brazilian population: a national survey based on screening questions. *J Clin Sleep Med*, 5:459-63, 2009
- Blacker C, Provost M, Kerdelhue B, Scholler R. Testicular function in uremic rats: in vivo assessment of testosterone biogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 39:395-403, 1991
- Bonilla-Jaime H, Vázquez-Palacios G, Arteaga-Silva M, Retana-Márquez S. Hormonal responses to different sexually related conditions in male rats. *Horm Behav*, 49:376-382, 2006

- Born J, Fehm HL. Hypothalamus-pituitary-adrenal activity during human sleep: a coordinating role for the limbic hippocampal system. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 106:153-136, 1998
- Braz S, Neumann BRB, Tufik S. Evaluation of sleep disorders: Elaboration and validation of a questionnaire. *ABP-APL*, 9:9-14, 1987
- Brot MD, Bernstein IL, Dorsa DM. Vasopressin deficiency abolishes a sexually dimorphic behavior in Brattleboro rats. *Physiol Behav*, 51:839-843, 1992
- Bryant PA, Trinder J, Curtis N. Sick and tired: Does sleep have a vital role in the immune system? *Nat Rev Immunol*, 4:457-67, 2004
- Burnett AL, Goldstein I, Andersson KE, Argiolas A, Christ G, Park K, Xin ZC. Future sexual medicine physiological treatment targets. *J Sex Med*, 7:3269-304, 2010
- Canal-Frederick G. Deprivation of rapid eye movement sleep and nesting behavior in rats. *Physiol Behav*, 18:341-344, 1977
- Canchola E, Monroy E, Velazquez-Moctezuma J. REM sleep deprivation facilitates the estrogen effect on heterotypical sexual behavior in male rats. *Physiol Behav*, 37:33-37, 1986
- Carrier S, Nagaraju P, Morgan DM, Baba K, Nunes L, Lue TF. Age decreases nitric oxide synthase-containing nerve fibers in the rat penis. *J Urology* 157:1088-1092, 1997
- Charifi C, Paut-Pagano L, Debilly G, Cespuglio R, Jouvet M, Valatx JL. Effect of noradrenergic denervation of the amygdala upon recovery after sleep deprivation in the rat. *Neurosci Lett*, 287:41-44, 2000
- Chu X, Zhavbert ES, Dugina JL, Kheyfets IA, Sergeeva SA, Epstein OI, Agmo A. Sildenafil and a compound stimulating endothelial NO synthase modify sexual incentive motivation and copulatory behavior in male Wistar and Fisher 344 rats. *J Sex Med*, 9:2085-99, 2008
- Cintra F, Poyares D, Rizzi CF, Risso TT, Skomro R, Montuori E, Mello-Fujita L, de Paola A, Tufik S. Cardiorespiratory response to exercise in men and women with obstructive sleep apnea. *Sleep Med*, 10:368-73, 2009
- Clark JH, Peck EJ Jr. Female sex steroids: receptors and function. *Monogr Endocrinol*, 14:1-245, 1979
- Clark JT, Sahu A, Mrotek JJ, Kalra SP. Sexual function and neuropeptideY levels in selected brain regions in male spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol*, 261:R1234-1241, 1991

- Cohen H, Dement W. Sleep changes in threshold to electro-convulsive shock in rats after deprivation of "paradoxical" phase. *Science*, 150:1318-1319, 1965
- Cooper AJ. Progestogens in the treatment of male sex offenders: a review, *Can. J. Psychol*, 31:73-79, 1986
- Crews D, Godwin J, Hartman V, Grammer M, Prediger EA, Sheppherd R. Intrahypothalamic implantation of progesterone in castrated male whiptail lizards (*Cnemidophorus inornatus*) elicits courtship and copulatory behavior and affects androgen receptor-and progesterone receptor-mRNA expression in the brain. *J Neurosci*, 16:7347-7352, 1996
- Cross E, Roselli CE. 17beta-estradiol rapidly facilitates chemo investigation and mounting in castrated male rats. *Am J Physiol*, 276(5 Pt 2):R1346-50, 1999
- Guindalini C, Colugnati FA, Pellegrino R, Santos-Silva R, Bittencourt LR, Tufik S. Influence of genetic ancestry on the risk of obstructive sleep apnoea syndrome. *Eur Respir J*, 36:834-41, 2010
- Cruz MR, Liu Y-C, Manzo J, Pacheco P, Sachs BD. Peripheral nerves mediating penile erection in the rat. *J Auton Nerv System*, 76:15-27, 1999
- Davidson JM, Levine S. Progesterone and heterotypical sexual behavior in male rats. *J Endocrinol*, 44:129-130, 1969
- Dement WC. Recent studies on the biological role of rapid eye movement sleep. *Am J Psychiatry*, 122:404-408, 1965
- DeVries AC, DeVries M, Taymans S, Carter C. The effect of stress on social preference are sexually dimorphic in prairie voles. *Proc Natl Acad Sci*, 93:11980-11984, 1996
- DeVries AC. Interaction among social environment, the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, and behavior. *Horm Behav*, 41:405-413, 2002
- Dinges DF, Pack F, Williams K, Gillen KA, Powell JW, Ott GE, Aptowicz C, Pack AI. Cumulative sleepiness, mood disturbance, and psychomotor vigilance performance decrements during a week of sleep restricted to 4-5 hours per night. *Sleep*, 20:267-77, 1997
- Drager LF, Lorenzi-Filho G. CPAP for obstructive sleep apnea and the metabolic syndrome. *N Engl J Med*, 366:964, 2012
- Drager LF, Li J, Reinke C, Bevans-Fonti S, Jun JC, Polotsky VY. Intermittent hypoxia exacerbates metabolic effects of diet-induced obesity. *Obesity (Silver Spring)*, 19:2167-74, 2011

- Drager LF, Togeiro SM, Polotsky VY, Lorenzi-Filho G. Obstructive sleep apnea: a cardiometabolic risk in obesity and the metabolic syndrome. *J Am Coll Cardiol*, 62:569-76, 2013
- Edinger KL, Frye CA. Sexual experience of male rats influences anxiety-like behavior and androgen levels. *Physiol Behav*, 92:443-453, 2007
- Edmonds ES, Withyachumnarnkul B. Sexual behavior of the obese male zucker rat. *Physiol Behav*, 24:1139-1141, 1980
- El-Sakka AI. Premature ejaculation in non-insulin-dependent diabetic patients. *Int J Androl*, 26:329-334, 2003
- Epilepsy Foundation. Available at: <http://www.epilepsyfoundation.org/resources/loader.cfm?csModule=security/getfile&pageid=37955> [online]. Accessed September, 2012
- Estadella D, Habitante CA, Oyama LM, Nascimento CMPO. Exercício físico e dieta de cafeteria (dieta palatável e hiperlipídica). In: Damaso A, editor. *Exercício e Metabolismo Energético*. São Paulo: Medsi, 2003 p. 305-319
- Everson CA, Bergmann BM, Rechtschaffen A. Sleep deprivation in the rat: III. Total sleep deprivation. *Sleep*, 12:13-21, 1989
- Farabollini FC, Lupo di Prisco C, Carli G. Changes in plasma testosterone and in its hypothalamic metabolism following immobility responses in rabbits. *Physiol Behav*, 20:613-618, 1978
- Feng P, Ma Y. Instrumental REM sleep deprivation in neonates leads to adult depression-like behaviors in rats. *Sleep*, 26:990-996, 2003
- Ferguson J, Dement W. The behavioral effects of amphetamine on REM deprived rats. *J Psychiat Res*, 7:111-118, 1969
- Ferini-Strambi L, Montorsi F, Iannaccone S, Guazzoni G, Zucconi M, Smirne S, Rigatti P. The impact of sleep deprivation on erotic erections. *Eur Urol*, 30:50-53, 1996
- Ferrara M, De Gennaro L, Bertini M. The effects of slow-wave sleep (SWS) deprivation and time of night on behavioral performance upon awakening. *Physiol Behav*, 68:55-61, 1999
- Ferrari F, Ottani A, Giuliani D. Influence of sildenafil on central dopamine-mediated behaviour in male rats. *Life Sciences*, 70:1501-1508, 2002
- Fisher C, Gross J, Zuch J. Cycles of penile erection synchronous with dreaming (REM) sleep. *Arch Gen Psych*, 12:29-45, 1965

- Fisher C, Schiavi P, Lear H, Edwards A, Davis DM, Witkin AP. The assessment of nocturnal REM erection in the differential diagnosis of sexual impotence. *J Sex Marital Ther*, 1:277-289, 1975
- Foster RG, Wulff K. The rhythm of rest and excess. *Nat Rev Neurosci*, 6:407-14, 2005
- Fraga-Silva RA, Montecucco F, Mach F, Santos RA, Stergiopoulos N. Pathophysiological role of the renin-angiotensin system on erectile dysfunction. *Eur J Clin Invest*, 43:978-85, 2013
- Galduróz JC, Carlini Ede A. Acute effects of the *Paulinia cupana*, "Guaraná" on the cognition of normal volunteers. *Sao Paulo Med J*, 112:607-11, 1994
- Gerardin DC, Pereira OC, Kempinas WG, Florio JC, Moreira EG, Bernardi MM. Sexual behavior, neuroendocrine, and neurochemical aspects in male rats exposed prenatally to stress. *Physiol Behav*, 84:97-104, 2005
- Giuliano F, Rampin O, Bernabé J, Rousseau J-P. Neural control of penile erection in the rat. *J Auton Nerv Syst*, 55:36-44, 1995
- Godoi FR, Oliveira MG, Tufik S. Effects of paradoxical sleep deprivation on the performance of rats in a model of visual attention. *Behav Brain Res*, 165:138-145, 2005
- Gonçalves MA, Guilleminault C, Ramos E, Palha A, Paiva T. Erectile dysfunction, obstructive sleep apnea syndrome and nasal CPAP treatment. *SleepMed*, 6:333-339, 2005
- Gray GD, Smith E, Dorsa DM, Davidson JM. Sexual behavior and testosterone in middle-aged male rats. *Endocrinology*, 109:1597-1604, 1981
- Grinspoon L, Bakalar JB. Sexual effects. In: Grinspoon L, Bakalar JB, editors. *Cocaine, a drug and its social evolution*. New York: Basic Books, p. 104-108, 1976
- Gulyani S, Majumdar S, Mallick BN. Rapid eye movement sleep and significance of its deprivation studies, a review. *Sleep Hypnosis*, 2:49-68, 2000
- Haley N, Roy E, Leclerc P, Boudreau JF, Boivin JF. Characteristics of adolescent street youth with a history of pregnancy. *J Pediatr Adolesc Gynecol*, 17:313-320, 2004
- Hammoud AO, Walker JM, Gibson M, Cloward TV, Hunt SC, Kolotkin RL, Adams TD, Meikle AW. Sleep apnea, reproductive hormones and quality of sexual life in severely obese men. *Obesity (Silver Spring)*, 19:1118-1123, 2011
- Hammoud AO, Carrell DT, Gibson M, Peterson CM, Meikle AW. Updates on the relation of weight excess and reproductive function in men: sleep apnea as a new area of interest. *Asian J Androl*, 14:77-81, 2012

- Hård E, Carlsson SG, Jern S, Larsson K, Lindh AS, Svensson L. Behavioral reactivity in spontaneously hypertensive rats. *Physiol Behav*, 35:487-492, 1985
- Harding CF, Feder HH. Relation between individual differences in sexual behavior and plasma testosterone levels in the guinea pig. *Endocrinology*, 98:1198-1205, 1976
- Harlan RE, Shivers BD, Moss RL, Shryne JE, Gorski RA. Sexual performance as a function of time of day in male and female rats. *Biology Reprod*, 23:64-71, 1980
- Hart BL, Melese-D'Hospital PY. Penile mechanisms and the role of the striated penile muscles in penile reflexes. *Physiol Behav*, 31:807-813, 1983
- Hart BL, Odell V. Elicitation of ejaculation and penile reflexes in spinal male rats by peripheral electric shock. *Physiol Behav*, 26:623-626, 1981
- Heller CG, Laidlaw WM, Harvey HT, Nelson WO. Effects of progestational compounds on the reproductive processes of the human male, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 71:1958, pp. 165-172, 1958
- Hermo, L. e Clermont, Y. How are germ cells produced and what factors control their production? In: Robaire, B.; Pryor, J.L. & Trasler, J.M. (eds.) *Handbook of andrology*. São Francisco: American Society of Andrology, 1995
- Hicks RA, Bautista J, Phillips N. REM sleep deprivation does not increase the sexual behaviors of male rat. *Perceptual Motor Skills*, 73:127-130, 1991
- Hirshkowitz M, Moore CA. Sleep-related erectile activity. *Neurol Clin*, 14:721-73, 1996
- Hoshino K. Food deprivation and hypothermia in desynchronized sleep-deprived rats. *Braz J Med Biol Res*, 29:41-46, 1996
- Hull EM, Bitran D, Pehek EA, Warner RK, Band LC, Holmes GM. Dopaminergic control of male sex behavior in rats: effects of an intracerebrally-infused agonist. *Brain Res*, 370:73-81, 1986
- Hull EM, Dominguez JM. Sexual behavior in male rodents. *Horm Behav*, 52:45-55, 2007
- Hirsch CJ, Karacan I, Williams RL. Some characteristics of nocturnal penile tumescence in early middle-aged males. *Compr Psychiat*, 13:539-548, 1972
- Ignarro LJ, Bush PA, Buga GM, Wood KS, Fukuto JM, Rajfer J. Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun*, 170:843-850, 1990
- Jauch-Chara K, Schmid SM, Hallschmid M, Oltmanns KM, Schultes B. Pituitary-gonadal and pituitary-thyroid axis hormone concentrations before and during a hypoglycemic clamp after sleep deprivation in healthy men. *PLoS One*, 8:e54209, 2013

- Jun J, Reinke C, Bedja D, Berkowitz D, Bevans-Fonti S, Li J, Barouch LA, Gabrielson K, Polotsky VY. Effect of intermittent hypoxia on atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis*, 209:381-6, 2010
- Kalivas PW. Neurocircuitry of addiction, in *Neuropsychopharmacology, The fifth generation of progress*. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia. p.1357-1366, 2002
- Karacan I, Goodenough DR, Shapiro A. Erection cycle during sleep in relation to dream anxiety. *Arch Gen Psych*, 15:183-189, 1966
- Karacan I, Hirsch CJ, Williams RL, Thornby JI. Some characteristics of nocturnal penile tumescence in young adults. *Arch Gen Psych*, 26:351-356, 1972
- Karacan I, Salis PJ, Thornby JI, Williams RL. The ontogeny of nocturnal penile tumescence. *Waking Sleeping*, 1:27-44, 1976
- Karacan I, Salis PJ, Ware JC, Dervent B, Williams RL, Scott FB, Attia SI, Beutler LE. Nocturnal penile tumescence and diagnosis in diabetic impotence. *Am J Psychiatry*, 135:191-197, 1978
- Karacan I, Scott FB, Hartse K, Williams RL, Aslan C, Takanami M, Dainoson K, Power R. Prevalence of erectile dysfunction in the sleep disorders center. In: Guilleminault C, Lugaresi E, editors. *Sleep/Wake Disorders: Natural History, Epidemiology, and Long-Term Evolution*. New York: Raven Press, p. 261-273, 1983
- Kato M, Roberts-Thomson P, Phillips BG, Haynes WG, Winnicki M, Accurso V, Somers VK. Impairment of endothelium-dependent vasodilation of resistance vessels in patients with obstructive sleep apnea. *Circulation*, 102:2607-10, 2000
- Kessler WO. Nocturnal penile tumescence. *Urologic Clinics of North America*, 15:81-86, 1988
- Kohlert JG, Bloch GJ. Hyperactivity in hyposexual male rats. *Physiol Behav*, 59:171-78, 1996
- Koppel BS, Samkoff L, Daras M. Relation of cocaine use to seizures and epilepsy. *Epilepsia*, 37:875-878, 1996
- Knutson KL. Sleep duration and cardiometabolic risk: a review of the epidemiologic evidence. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 24:731-43, 2010
- Krey LC, McGinnis MY. Time-courses of the appearance/disappearance of nuclear androgen + receptor complexes in the brain and adenohypophysis following testosterone administration/withdrawal to castrated male rats: relationships with gonadotropin secretion. *J Steroid Biochem*, 35:403-8, 1990
- Laidlaw J. Living with epilepsy: a case history. *Nurs Times*, 70:1456-8, 1974

- Laidlaw J. Epilepsy and environment. *Nurs Times*, 71:119-20, 1975
- Laumann EO, Paik A, Rosen RC. Sexual dysfunction in the United States: prevalence and predictors. *JAMA*, 281:537-544, 1999
- Lavie P. Penile erections in a patient with nearly total absence of REM: a follow-up study. *Sleep*, 13:276-278, 1990
- Leibowitz SM, Brooks SN, Black JE. Excessive daytime sleepiness: considerations for the psychiatrist. *Psychiatr Clin North Am*, 29:921-45, 2006
- Leite MC, Andrade AG. Cocaína e crack, dos fundamentos ao tratamento. Porto Alegre: Artmed, 1999
- Leproult R, Van Cauter E. Role of sleep and sleep loss in hormonal release and metabolism. *Endocr Dev*, 17:11-21, 2010
- Lindzey J, Crews D. Hormonal control of courtship and copulatory behavior in male *Cnemidophorus inornatus*, a direct sexual ancestor of a unisexual, parthenogenetic lizard. *Gen Comp Endocrinol*, 64:411-418, 1986
- Liu Y-C, Sachs BD. Erectile function in male rats after lesions in nucleus paragigantocellularis. *Neurosci Lett*, 262:203-206, 1999
- Lladó I, Pons A, Palou A. Fatty acid composition of brown adipose tissue in dietary obese rats. *Biochem Mol Biol Int*, 43:1129-11236, 1997
- Lo KC, Lei Z, Rao ChV, Beck J, Lamb DJ. De novo testosterone production in luteinizing hormone receptor knockout mice after transplantation of leydig stemcells. *Endocrinology*, 145:4011-4015, 2004
- Lochlainn MN, Kenny RA. Sexual activity and aging. *J Am Med Dir Assoc*, 14:565-72, 2013
- Manzo J, Cruz MR, Hernandez ME, Pacheco P, Sachs BD. Regulation of noncontact erection in rats by gonadal steroids. *Horm Behav*, 35:264-270, 1999
- Manzo J, Garcia LI and Coria-Avila G. Control autonómico de la conducta sexual masculina. Em: Manzo J (Ed.) *Neuroetología: La década del cerebro y la conducta animal*. Universidad Veracruzana (Ed.) Xalapa, Mexico, pp73-87, 2002
- Marson L, McKenna KE. Stimulation of the hypothalamus initiates the urethro-genital reflex in male rats. *Brain Res*, 638:103-108, 1994
- Martins RC, Andersen ML, Garbuio SA, Bittencourt LR, Guindalini C, Shih MC, Hoexter MQ, Bressan RA, Castiglioni ML, Tufik S. Dopamine transporter regulation during four nights of REM sleep deprivation followed by recovery-an in vivo molecular imaging study in humans. *Sleep*, 33:243-51, 2010

- Martins PJ, D'Almeida V, Nobrega JN, Tufik S. A reassessment of the hyperphagia/weight-loss paradox during sleep deprivation. *Sleep*, 29:1233-8, 2006
- Matos G, Scorza FA, Cavalheiro EA, Tufik S, Andersen ML. Doctors, have you ever heard about sleep disturbance, erectile dysfunction, and epilepsy? *Epilepsy Behav*, 28:8-9, 2013
- Matos G, Scorza FA, Cavalheiro EA, Tufik S, Andersen ML. PDEI-5 for erectile dysfunction: a potential role in seizure susceptibility. *J Sex Med*, 9:2111-21, 2012
- Mayoux E, Ramirez JF, Pouyet T, Barras M, Arbilla S, Galzin A-M. Alfuzosin improves penile erection triggered by apomorphine in spontaneous hypertensive rats. *Eur Urol*, 45:110-116, 2004
- McClintock MK. Group mating in the domestic rat as a context for sexual selection: consequences for the analysis of sexual behavior and neuroendocrine responses. *Adv Study Behav*, 14:1-50, 1984
- McCullough AR, Barada JH, Fawzy A, Guay AT, Hatzichristou D. Achieving treatment optimization with sildenafil citrate (Viagra) in patients with erectile dysfunction. *Urology*, 60:28-38, 2002
- McLachlan RI, Wreford NG, Robertson DM, de Kretser DM. Hormonal control of spermatogenesis. *Trends Endocrinol Metab*, 6:95-101, 1995
- Meerlo P, Sgoifo A, Suchecki D. Restricted and disrupted sleep: effects on autonomic function, neuroendocrine stress systems and stress responsivity. *Sleep Med Rev*, 12:197-210, 2008
- Meisel RL, Sachs BD. The physiology of male sexual behavior. In: Knobil E, Neill J, editors. *The Physiology of Reproduction*. 2nd ed. New York: Raven Press, p. 3-106, 1994
- Michal V, Kramar R, Pospichal J, Hejhal L. Arterial epigastricocavernous anastomosis for the treatment of sexual impotence. *World J Surg*, 1:515-520, 1977
- Money J. Use of an androgen-depleting hormone in the treatment of male sex offenders. *J. Sex Res*, 6:165-172, 1970
- Moralí G, Beyer C. Motor aspects of masculine sexual behavior in rats and rabbits. In: Slater PJR, Rosenblatt JS, Beer C, Milinski M, editors. *Advances in the study of behavior*. 21st. ed. New York: Academic Press, p. 201-238, 1992

- Moralí G, Soto MAP, Contreras JL, Arteaga M, González-Vidal MD, Beyer C. Detailed analysis of the male copulatory motor pattern in mammals: Hormonal bases. *Scand J Psychol*, 44:279-288, 2003
- Morden B, Mullins R, Levine S, Cohen H, Dement W. Effect of REM deprivation on the mating behavior of male rats. *Psychophysiol*, 5:241-242., 1968
- Moreira KM, Hipólido DC, Nobrega JN, Bueno OF, Tufik S, Oliveira MG. Deficits in avoidance responding after paradoxical sleep deprivation are not associated with altered [3H] pirenzepine binding to M1 muscarinic receptors in rat brain. *Brain Res*, 977:31-7, 2003
- Nappo SA, Galduróz JC, Noto AR. Crack use in São Paulo. *Subst Use Misuse*, 31:565-79, 1996
- National Health Interview Survey, 2005 (ICPSR 04606)
<http://www.icpsr.umich.edu/icpsrweb/ICPSR/ssvd/studies/04606/datasets/0004/variables/SLEEP?q=sleep>, 2005.
- Nindl BC, Rarick KR, Castellani JW, Tuckow AP, Patton JF, Young AJ, Montain SJ. Altered secretion of growth hormone and luteinizing hormone after 84 h of sustained physical exertion superimposed on caloric and sleep restriction. *J Appl Physiol*, 100:120-128, 2006
- Novoa RA, Ompad DC, Wu Y, Vlahov D, Galea S. Ecstasy use and its association with sexual behaviors among drug users in New York City. *J Community Health*, 30:331-43, 2005
- Nunes GP, Tufik S, Nobrega JN. Autoradiographic analysis of D1 and D2 dopaminergic receptors in rat brain after paradoxical sleep deprivation. *Brain Res Bull*, 34:435-456, 1994a
- Nyby JG. Reflexive testosterone release: a model system for studying the nongenomic effects of testosterone upon male behavior. *Front Neuroendocrinol*, 29:199-210, 2008
- Oettel M, Mukhopadhyay AK. Progesterone: the forgotten hormone in men? *Aging Male*, 7:236-257, 2004
- Ohlmeyer P, Brilmayer H, Hüllstrung H. Periodische Vorgänge im schlaf. *Pflugers Arch*, 248:559-560, 1944
- OMS. Organização Mundial da Saúde. Neurociências: consumo e dependência de substâncias psicoativas. Genebra, 2004
- Oswald I. *Sleeping and Waking*. Amsterdam: Elsevier; 1962

- Papale LA, Andersen ML, Antunes IB, Alvarenga TA, Tufik S. Sleep pattern in rats under different stress modalities. *Brain Res*, 1060:47-54, 2005
- Parmeggiani PL. The autonomic nervous system in sleep. In: Kryger MH, Roth R, Dement WC, editors. *Principles and Practice of Sleep Medicine*. Philadelphia: WB Saunders, p.194-203, 1994
- Pennell PB. Hormonal aspects of epilepsy. *Neurol Clin*, 27:941-65, 2009
- Pereira OC, Bernardi MM, Gerardin DC. Could neonatal testosterone replacement prevent alterations induced by prenatal stress in male rats? *Life Sci*, 78:2767-2771, 2006
- Perry, JC, D'Almeida, V, Souza, FG, Schoorlemmer, GHM, Colombari, E, Tufik, S. Effects of subchronic and chronic exposure to intermittent hypoxia and sleep deprivation on cardiovascular risk factors in rats. *Respir Physiol Neurobiol*, 156: 250-258, 2007
- Pfaus JG, Wilkins MF. A novel environment disrupts copulation in sexually naïve but not experienced male rats: reversal with naloxone. *Physiol Behav*, 57:1045-9, 1995
- Pfaus JG. Homologies of animal and human sexual behaviors. *Horm Behav*, 30:187-200, 1996
- Phelps SM, Lydon JP, O'Malley BW, Crews D. Regulation of male sexual behaviour by progesterone receptor, sexual experience and androgen. *Horm Behav*, 34:294-302, 1998
- Piser JA, Edmonds ES, Hoftiezer V. Sperm motility and histomorphometry of the testis of the genetically obese Zucker rat. *J Androl*, 2:200-204, 1981
- Portillo W, Castillo CG, Retana-Márquez S, Roselli CE, Paredes RG. Neuronal activity of aromatase enzyme in non-copulating male rats. *J Neuroendocrinol*, 19:139-141, 2007
- Portillo W, Díaz NF, Retana-Márquez S, Paredes RG. Olfactory, partner preference and Fos expression in the vomeronasal projection pathway of sexually sluggish male rats. *Physiol Behav*, 88:389-397, 2006
- Portillo W, Paredes RG. Sexual incentive motivation, olfactory preference, and activation of the vomeronasal projection pathway by sexually relevant cues in non-copulating and naive male rats. *Horm Behav*, 46:330-340, 2004
- Rechtschaffen A, Bergmann BM, Everson CA, Kushida CA, Gilliland MA. Sleep deprivation in the rat: III. Total sleep deprivation. *Sleep*, 12:1-4, 1989a

- Rechtschaffen A, Bergmann BM, Everson CA, Kushida CA, Gilliland MA. Sleep deprivation in the Rat: X. Integration and Discussion of the Findings. *Sleep*, 12:68-87, 1989b
- Reilly CM, Lewis RW, Stopper VS, Mills TM. Androgenic maintenance of the rat erectile response via a non-nitric-oxide-dependent pathway. *J Androl*, 18: 588-594, 1997
- Rhoden EL, Telöken C, Sogari PR, Vargas Souto CA. The use of the simplified International Index of Erectile Function (IIEF-5) as a diagnostic tool to study the prevalence of erectile dysfunction. *Int J Impot Res*, 14:245-50, 2002
- Roselli CE, Chambers K. Sex differences in male-typical copulatory behaviors in response to androgen and estrogen treatment in rats. *Reprod Neuroendocrinol*, 69:290-298, 1999
- Roth T. Sleep and society. *Sleep Med*, 10:S1-2, 2009
- Roy E, Haley N, Leclerc P, Lemire N, Boivin JF, Frappier JY, Claessens C. Prevalence of HIV infection and risk behaviours among Montreal street youth. *Int J STD AIDS*, 11:241-7, 2000
- Rosen RC. Sexual function assessment in the male: physiological and self-report measures. *Int J Impot Res*, 10:S59-63, 1998
- Ruiz FS, Andersen ML, Zager A, Martins RCS, Tufik S. Sleep deprivation reduces the lymphocyte count in a non-obese mouse model of type 1 diabetes mellitus. *Braz J Med Biol Res*, 40:633-637, 2007
- Ruwanpura SM, McLachlan RI, Meachem SJ. Hormonal regulation of male germ cell development. *J Endocrinol*, 205:117-31, 2010
- Sachs BD, Akasofu K, Citron JH, Daniels SB, Natoli JH. Noncontact stimulation from estrous female evokes penile erection in rats. *Physiol Behav*, 55:1073-1079, 1994
- Sachs BD, Bitran D. Spinal block reveals roles for brain and spinal cord in the mediation of reflexive penile erection in rats. *Brain Res*, 528:99-108, 1990
- Sachs BD, Garinello LD. Spinal pacemaker controlling sexual reflexes in male rats. *Brain Res*, 171:152-156, 1979
- Sachs BD. Contextual approaches to the physiology and classification of erectile function, erectile dysfunction, and sexual arousal. *Neurosci Biobehav Rev*, 24:541-560, 2000
- Sachs BD. Erection evoked in male rats by airborne scent from estrous female. *Physiol Behav*, 62:921-924, 1997

- Sachs BD. Penile erection in response to remote cues from females: albino rats severely impaired relative to pigmented strains. *Physiol Behav*, 60:803-808, 1996
- Sakuma Y. Neural substrates for sexual preference and motivation in the female and male rat. *Ann N Y Acad Sci*, 1129:55-60, 2008
- Sande KJ, Mahan K. Desequilíbrio do peso corpóreo: cuidado nutricional no controle de peso. In: Krause MV, Mahan K, editores. *Alimentos, nutrição e dietoterapia*. 7a edição. São Paulo: Roca, p. 981-998, 1991
- Santos-Silva R, Tufik S, Conway SG, Taddei JA, Bittencourt LR. Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study: rationale, design, sampling, and procedures. *Sleep Med*, 10:679-85, 2009
- Schiavi RC. The role of the sleep laboratory in the evaluation of male erectile dysfunction. *The Mount Sinai J Med*, 61:161-165, 1994
- Schmidt MH, Schmidt HS. Sleep-related erections: neural mechanisms and clinical significance. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2004;4:170-178
- Schmidt MH, Valatx JL, Sakai K, Fort P, Jouvét M. Role of the lateral preoptic area in sleep-related erectile mechanisms and sleep generation in the rat. *J Neurosci*, 20: 6640-6647, 2000a
- Schmidt MH, Valatx J-L, Sakai K, Debilly G, Jouvét M. Corpus spongiosum penis pressure and perineal muscle activity during reflexive erections in the rat. *Am J Physiol*, 269(4pt2):R904-R13, 1995
- Schmidt MH, Valatx JL, Schmidt HS, Wauquier A, Jouvét M. Experimental evidence of penile erections during paradoxical sleep in the rat. *Neuroreport*, 5:561-564, 1994
- Schmidt MH. Sleep-related penile erections. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC, editors. *Principles and Practice of Sleep Medicine*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, p. 305-318, 2000b
- Schuster CR, Fischman MW. Characteristics of human volunteering for a cocaine research project. In: *Cocaine use in America: Epidemiologic and Clinical Perspectives*, Research Monograph 63, National Institute of Health, Rockville, NIDA, 1985
- Sclafani A, Springer D. Dietary obesity in adult rats: similarities to hypothalamic and human obesity syndromes. *Physiol Behav*, 17:461-471, 1976
- Seabra Mde L, Tufik S. Sodium diclofenac inhibits hyperthermia induced by paradoxical sleep deprivation: the possible participation of prostaglandins. *Physiol Behav*, 54:923-926, 1993

- Seibel SD, Toscano Jr. A Dependência de drogas. São Paulo: Atheneu; 2000
- Selye H. The stress of life. New York: McGraw-Hill; 1956
- Shamloul R, Ghanem H. Erectile dysfunction. *Lancet*, 381:153-165, 2013
- Shi L, Mao C, Xu Z, Zhang L. Angiotensin-converting enzymes and drug discovery in cardiovascular diseases. *Drug Discov Today*, 15:332-341, 2010
- Sigurdson K, Ayas NT. The public health and safety consequences of sleep disorders. *Can J Physiol Pharmacol*, 85:179-83, 2007
- Singh J, Handelsman DJ. The effects of recombinant FSH on testosterone-induced spermatogenesis in gonadotrophin-deficient (hpg) mice. *J Androl*, 17:382-393, 1996
- Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force. *Sleep*, 22:667-689, 1999
- Smith ER, Stefanick ML, Clark JT, Davidson JM. Hormones and sexual behavior in relationship to aging in male rats. *Horm Behav*, 26:110-135, 1992
- Sodersten P, Larsson K. Lordosis behavior and mounting behavior in male rats: effects of castration and treatment with estradiol benzoate or testosterone propionate. *Physiol Behav*, 14:159-164, 1975
- Sofikitis N, Giotitsas N, Tsounapi P, Baltogiannis D, Giannakis D, Pardalidis N. Hormonal regulation of spermatogenesis and spermiogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 109:323-330, 2008
- Sousa M, Cremades N, Silva J, Oliveira C, Ferraz L, Teixeira da Silva J, et al. Predictive value of testicular histology in secretory azoospermic subgroups and clinical outcome after microinjection of fresh and frozen-thawed sperm and spermatids. *Hum Reprod*, 17:1800-1810, 2002
- Spiegel K, Leproult R, Van Cauter E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet*, 354:1435-1439, 1999
- Stables JP, Bertram E, Dudek FE, Holmes G, Mathern G, Pitkanen A, White HS. Therapy discovery for pharmacoresistant epilepsy and for disease-modifying therapeutics: summary of the NIH/NINDS/AES models II workshop. *Epilepsia*, 44:1472-1478, 2003
- Suchecki D, Tiba PA, Tufik S. Hormonal and behavioural responses of paradoxical sleep-deprived rats to the elevated plus maze. *J Neuroendocrinol*, 14:549-54, 2002

- Sullivan CJ, Teal TH, Luttrell IP, Tran KB, Peters MA, Wessells H. Microarray analysis reveals novel gene expression changes associated with erectile dysfunction in diabetic rats. *Physiol Genomics*, 23:192-205, 2005
- Sura A, Overstreet DH, Marson L. Selectively bred male rat lines differ in naïve and experienced sexual behavior. *Physiol Behav*, 72:13-20, 2001
- Teloken PE, Smith EB, Lodowsky C, Freedom T, Mulhall JP. Defining association between sleep apnea syndrome and erectile dysfunction. *Urology*, 67:1033-1037, 2006
- Terán-Pérez G, Arana-Lechuga Y, Esqueda-León E, Santana-Miranda R, Rojas-Zamorano JÁ, Velázquez Moctezuma J. Steroid hormones and sleep regulation. *Mini Rev Med Chem*, 12:1040-1048, 2012
- Togei SM, Smith AK. Diagnostics methods for sleep disorders. *Rev Bras Psiquiatr*, 27:8-15, 2005
- Trischitta V. Relationship between obesity-related metabolic abnormalities and sexual function. *J Endocrinol Invest*, 26:62-64, 2003
- Tsai YF, Tsai HW, Tai MY, Huang RL, Peng MT. Male sexual behavior is associated with LHRH neuron number in middle-aged rats. *Neurosci Lett*, 237:81-84, 1997
- Tufik S, Santos-Silva R, Taddei JA, Bittencourt LR. Obstructive sleep apnea syndrome in the Sao Paulo Epidemiologic Sleep Study. *Sleep Med*, 11:441-446, 2010
- Tufik S, Andersen ML, Bittencourt LR, Mello MT. Paradoxical sleep deprivation: neurochemical, hormonal and behavioral alterations. Evidence from 30 years of research. *An Acad Bras Cienc*, 81:521-538, 2009
- Tufik S, Luca Nathan C, Neumann B, Hipolide DC, Lobo LL, Medeiros R, Troncone RPT, Braz S, Suchecki D. Effects of stress on drug-induced yawning: constant vs. intermittent stress. *Physiol Behav*, 58:181-184, 1995
- Tufik S. Increased responsiveness to apomorphine after REM sleep deprivation: supersensitivity of dopamine receptors or increase in dopamine turnover? *J Pharm Pharmacol*, 33:732-738, 1981
- Tufik S, Lindsey CJ, Carlini EA. Does REM sleep deprivation induce a supersensitivity of dopaminergic receptors in the rat brain? *Pharmacolog*, 16:95-108, 1978
- Valenti D, La Vignera S, Condorelli RA, Rago R, Barone N, Vicari E, Calogero AE. Follicle-stimulating hormone treatment in normogonadotropic infertile men. *Nat Rev Urol*, 10:55-62, 2013

- Velazquez-Moctezuma J, Monroy E, Beyer C, Canchola E. Effects of REM deprivation on the lordosis response induced by gonadal steroids in ovariectomized rats. *Physiol Behav*, 32:91-94, 1984
- Velazquez-Moctezuma J, Monroy E, Cruz ML. Facilitation of the effect of testosterone on male sexual behavior in rats deprived of REM sleep. *Behav Neural Biol*, 51:46-53, 1989
- Velazquez-Moctezuma J, Salazar ED, Rueda MLC. The effect of prenatal stress on adult sexual behavior in rats depends on the nature of the stressor. *Physiol Behav* 53:443-448, 1993
- Velazquez-Moctezuma J, Salazar ED, Retana-Marquez S. Effects of short-and long-term REM sleep deprivation on sexual behavior in male rats. *Physiol Behav* 59:277-281, 1996
- Verma S, Chhina GS, Kumar VM, Singh B. Effect of rapid eye movement sleep deprivation on sexual behaviour of male rats. *Indian J Exp Biol*, 27:892-894, 1989
- Vimont-Vicary P, Jouvet-Mounier D, Delorme F. Effects EEG et comportementaux des sommeil paradoxal chez le chat. *Electroenceph Clin Neurophysiol*, 20:439-449, 1966
- Walker WH. Molecular mechanisms of testosterone action in spermatogenesis. *Steroids*, 74:602-607, 2009
- Ware JC, Hirshkowitz M, Thornby J, Salis P, Karacan I. Sleep-related erections: absence of change following presleep sexual arousal. *J Psychosom Res*, 42:547-553, 1997
- Ware JC. Penile erection during sleep. Their use in the differential diagnosis of impotence. *The Alabama J Medical Sciences*, 23:398-401, 1986
- Wise RA. Neural mechanisms of the reinforcing action of cocaine. *NIDA Res Monogr*, 50:15-33, 1984
- Witt DM, Young LJ, Crews D. Progesterone and sexual behavior in males. *Psychoneuroendocrinology*, 19:553-562, 1994
- Witt DM, Young LJ, Crews D. Progesterone modulation of androgen-dependent sexual behavior in male rats. *Physiol Behav*, 57:307-313, 1995
- Wu D, Gore AC. Sexual experience changes sex hormones but not hypothalamic steroid hormone receptor expression in young and middle-aged male rats. *Horm Behav*, 56:299-308, 2009

- Zager A, Andersen ML, Ruiz FS, Antunes IB, Tufik S. Effects of acute and chronic sleep loss on immune modulation of rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 293:504-509, 2007
- Zager A, Pinheiro ML, Ferraz-de-Paula V, Ribeiro A, Palermo-Neto J. Increased cell-mediated immunity in male mice offspring exposed to maternal immune activation during late gestation. *Int Immunopharmacol*, 2013, in press
- Zarcone V, Zukowsky E, Gulevich G, Dement W, Hoddes E. Rorschach responses subsequent to REM deprivation in schizophrenic and nonschizophrenic patients. *J Clin Psychol*, 30:248-250, 1974

6. ANEXOS

Artigos referentes à contribuição científica da candidata para o tema abordado nesta Tese

- ARTIGO 1** ANDERSEN ML, PALMA D, RUEDA AD, TUFIK S. The effects of acute cocaine administration in paradoxical sleep-deprived rats. *Addiction Biology*, 5:417-420, 2000
- ARTIGO 2** ANDERSEN ML, TUFIK S. Distinct effects of paradoxical sleep deprivation and cocaine administration on sexual behavior in male rats. *Addiction Biology*, 7:251-253, 2002
- ARTIGO 3** ANDERSEN ML, BIGNOTTO M, TUFIK S. Cocaine-induced genital reflexes during paradoxical sleep deprivation and recovery. *Physiology Behavior*, 78:255-259, 2003
- ARTIGO 4** ANDERSEN ML, BIGNOTTO M, TUFIK S. Influence of paradoxical sleep deprivation and cocaine on development of spontaneous penile reflexes in rats of different ages. *Brain Research*, 968:130-138, 2003
- ARTIGO 5** ANDERSEN ML, BIGNOTTO M, MACHADO RB, TUFIK S. Does paradoxical sleep deprivation and cocaine induce penile erection and ejaculation in old rats? *Addiction Biology*, 7:285-290, 2002
- ARTIGO 6** ANDERSEM ML, BIGNOTTO M, PAPALE LA, TUFIK S. Age-related effects on genital reflexes induced by paradoxical sleep deprivation and cocaine in rats. *Experimental Gerontology*, 39:233-237, 2004
- ARTIGO 7** ANDERSEN ML, PAPALE LA, TUFIK S. Diurnal variation in the genital reflexes and hormonal levels induced by paradoxical sleep deprivation and cocaine in male rats. *Brain Research Bulletin*, 64:215-220, 2004

- ARTIGO 8** ANDERSEN ML, ANTUNES IB, TUFIK S. Effects of paradoxical sleep deprivation on genital reflexes in five rat strains. *Hormones Behavior*, 49:173-180, 2006
- ARTIGO 9** ANDERSEN ML, BIGNOTTO M, TUFIK S. The effect of apomorphine on genital reflexes in male rats deprived of paradoxical sleep. *Physiology Behavior*, 80:211-215, 2003
- ARTIGO 10** ANDERSEN ML, TUFIK S. The effects of dopaminergic agonists on genital reflexes in paradoxical sleep deprived male rats. *Physiology Behavior*, 84:205-210, 2005
- ARTIGO 11** ANDERSEN ML, PERRY JC, BIGNOTTO M, CININI SM, PEREZ-MENDES P, MELLO LEA, TUFIK S. Influence of chronic cocaine treatment and sleep deprivation on sexual behavior and neurogenesis of the male rat. *Progress Neuro-Psychopharmacology Biological Psychiatry*, 31:1224-1229, 2007
- ARTIGO 12** ANDERSEN ML, BIGNOTTO M, TUFIK S. Hormone treatment facilitates penile erection in castrated rats after sleep deprivation and cocaine. *Journal of Neuroendocrinology*, 16:154-159, 2004
- ARTIGO 13** ANDERSEN ML, BIGNOTTO M, MACHADO RB, TUFIK S. Different stress modalities result in distinct steroid responses by male rats. *Brazilian Journal of Medical Biological Research*, 37:791-797, 2004
- ARTIGO 14** ANDERSEN ML, TUFIK S. Effects of progesterone blockade over cocaine-induced genital reflexes of paradoxical sleep deprived male rats. *Hormones Behavior*, 47:477-484, 2005
- ARTIGO 15** ANDERSEN ML, MARTINS PJF, D'ALMEIDA V, BIGNOTTO M, TUFIK S. Endocrinological and catecholaminergic alterations during sleep deprivation and recovery in male rats. *Journal Sleep Research*, 14:83-90, 2005

- ARTIGO 16** ANDERSEN ML, PERRY JC, ANTUNES IB, TUFIK S. Involvement of nitric oxide in cocaine-induced erections and ejaculations after paradoxical sleep deprivation. *Progress Neuro-Psychopharmacology Biological Psychiatry*, 31:652-657, 2007
- ARTIGO 17** ANDERSEN ML, BIGNOTTO M, TUFIK S. The effect of sildenafil (Viagra) on genital reflexes in paradoxical sleep deprived male rats. *Brazilian Journal Medical Biological Research*, 40:1473-1480, 2007
- ARTIGO 18** ALVARENGA TA, ANDERSEN ML, TUFIK S. Influence of progesterone on sexual performance in male rats. *Journal Sexual Med*, 7:2435-2444, 2010
- ARTIGO 19** ALVARENGA TA, HIROTSU C, MAZARO-COSTA R, TUFIK S, ANDERSEN ML. Impairment of reproductive function after sleep deprivation. *Submetido*
- ARTIGO 20** VENANCIO D, ANDERSEN ML, VILAMAIOR P, SANTOS F, ZAGER A, TUFIK S, TABOGA SR, MELLO MT. Sleep deprivation alters rat ventral prostate morphology, leading to glandular atrophy: a microscopic study contrasted with the hormonal assays. *J Biomedicine and Biotechnology*, ID 285938, 2012
- ARTIGO 21** ALVARENGA TA, AGUIAR MFP, MAZARO-COSTA R, TUFIK S, ANDERSEN ML. Effects of sleep deprivation during pregnancy on the reproductive capability of the offspring. *Fertil Steril*, no prelo
- ARTIGO 22** ANDERSEN ML, MARTINS RCS, ALVARENGA TAF, ANTUNES IB, PAPALE LA, TUFIK S. Progesterone reduces erectile dysfunction in sleep-deprived spontaneously hypertensive rats. *Reproduction Biology and Endocrinology*, 5:1-12, 2007

- ARTIGO 23** ANDERSEN ML, LEE KS, ALVARENGA TAF, GUINDALINI C, EGYDIO F, TUFIK S. Expression of ceruloplasmin in cavernosal tissue of paradoxically sleep deprived rats. *Sleep Science*, 5:40-44, 2012
- ARTIGO 24** ANDERSEN ML, D'ALMEIDA V, MARTINS PJF, BIGNOTTO M, TUFIK S. Effects of paradoxical sleep deprivation and cocaine on genital reflexes in hyperlipidic-fed rats. *Pharmacology Biochemistry Behavior*, 81:758-763, 2005
- ARTIGO 25** ALVARENGA TAF, ANDERSEN ML, PAPALE LA, TUFIK S. Effects of long-term food restriction on genital reflexes in male paradoxically sleep deprived rats. *Brain Research*, 1115:148-154, 2006
- ARTIGO 26** ALVARENGA TA, ANDERSEN ML, VELÁZQUEZ-MOCTEZUMA J, TUFIK S. Food restriction or sleep deprivation: Which exerts a greater influence on the sexual behavior of male rats? *Behavioral Brain Research*, 202: 266-271, 2009
- ARTIGO 27** ANDERSEN ML, ALVARENGA TA, MATOS G, SCORZA FA, SONODA EY, HIROTSU C, CAVALHEIRO EA, TUFIK S. Impairment of sexual function in rats with epilepsy. *J Sexual Medicine*, 9:2266-72, 2012
- ARTIGO 28** HIROTSU C, TUFIK S, ANDERSEN ML. The role of sleep and sildenafil in the progression of chronic kidney disease: a new therapeutic approach? *Submetido*
- ARTIGO 29** ANDERSEN ML, SANTOS-SILVA R, BITTENCOURT LR, TUFIK S. Prevalence of erectile dysfunction complaints associated with sleep disturbances in Sao Paulo, Brazil: a population-based survey. *Sleep Medicine*, 11:1019-1024, 2010
- ARTIGO 30** ANDERSEN ML, GUINDALINI C, SANTOS-SILVA R,

BITTENCOURT LR, TUFIK S. Association analysis of eNOS G894t gene polymorphism and erectile dysfunction complaints in a population-based survey. *Journal Sexual Medicine*, 7: 1229-1236, 2010

ARTIGO 31 ANDERSEN ML, GUINDALINI C, SANTOS-SILVA R, BITTENCOURT LR, TUFIK S. Angiotensin converting enzyme polymorphism and erectile dysfunction complaints in the Brazilian population. *Journal Sexual Medicine*, 7: 2791-2797, 2010

ARTIGO 32 ANDERSEN ML, ALVARENGA TA, MAZZOTTI DR, GUINDALINI C, PELLEGRINO R, BARRUECO KF, SANTOS-SILVA R, BITTENCOURT LRA, TUFIK S. Hormonal profile, the PROGINS polymorphism and erectile dysfunction complaints: data from a population-based survey. *Fertility and Sterility*, 95:621-624, 2011

ARTIGO 33 ANDERSEN ML, ALVARENGA TA, MAZZOTTI DR, GUINDALINI C, PELLEGRINO R, BARRUECO KF, SANTOS-SILVA R, BITTENCOURT LRA, TUFIK S. Androgen receptor CAG repeat polymorphism is not associated with erectile dysfunction complaints, gonadal steroids and sleep parameters: data from a population-based survey. *J Andrology*, 32:524-9, 2011

ARTIGO 34 MATOS G, HIROTSU C, ALVARENGA TA, CINTRA F, BITTENCOURT LR, TUFIK S, ANDERSEN ML. The association between TNF- α and erectile dysfunction complaints. *Andrology*, no prelo